

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:

2004年8月12日(12.08.2004)

PCT

(10) 国际公布号:

WO 2004/067029 A1

(51) 国际分类号⁷: A61K 39/00, 39/12, C12N 15/00, 15/13, A61P 35/00

(21) 国际申请号: PCT/CN2003/001127

(22) 国际申请日: 2003年12月26日(26.12.2003)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
02159602.6 2002年12月27日(27.12.2002) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 深圳市清华源兴生物医药科技有限公司(SHENZHEN TSINGHUA YUANXING BIO-PHARM SCIENCE & TECHNOLOGY CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术开发区北区郎山路, Guangdong 518057 (CN)。

(72) 发明人: 及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 田聆(TIAN, Ling) [CN/CN]; 中国四川省成都市小南街123号冠城花园檀香阁08-48室, Sichuan 610015 (CN)。魏于全(WEI, Yuquan) [CN/CN]; 中国四川省成都市大学路12号三小区14栋三单元6楼18号, Sichuan 610041 (CN)。

(74) 代理人: 北京纪凯知识产权代理有限公司(JEEKAI & PARTNERS); 中国北京市西城区宣武门西大街129号金隅大厦602室, Beijing 100031 (CN)。

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人在国际申请日有权要求该在先申请的优先权(细则4.17(iii))对除美国以外的所有指定国
- 发明人资格(细则4.17(iv))仅对美国

本国际公布:

- 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: METHOD OF PREPARING A VACCINE AND ANTI-TUMOR VACCINES

(54) 发明名称: 疫苗制备方法和抗肿瘤疫苗

(57) Abstract: The present invention provides a method of preparing a vaccine. Said method includes: 1) analyzing specific antigen of particular pathogen; 2) obtaining a polynucleotide encoding the specific antigen; 3) obtaining a polynucleotide sequence having a sufficient difference from the polynucleotide; 4) preparing a vaccine using the polynucleotide sequence. The present invention also provides anti-tumor vaccines, particularly anti-tumor EGFR molecular vaccines. Said anti-tumor EGFR molecular vaccines are a variety of new biotechnological vaccines constructed by using EGFR molecular as antigens, including protein vaccines, gene vaccines, virus vaccines, gene-modified vaccines and stably transformed symbiotic bacterium. One of the biological function of the EGFR molecular vaccines has an anti-tumor effect on a variety of solid tumor cancer which over-express the EGFR molecular, e.g., lung cancer, breast cancer, ovary cancer, colon cancer, prostate cancer, stomach cancer, etc, including a protective anti-tumor immune effect, therapeutic anti-tumor effect and inhibiting cancer metastasis. The anti-tumor action mechanism of EGFR molecular vaccine is that said EGFR molecular may destroy an individual's immune tolerance to self-EGFR molecular as cross-reactive antigens, and therefore induce an immuno-cross-response to the self-EGFR molecular in the individual, including active immune reaction (cellular immune reaction and humoral immune reaction) and passive immune reaction (adoptive immune reaction). Said anti-tumor EGFR molecular vaccines are either traditional preparation (aqua, lyophilized powder) or nano preparation prepared by nano biotechnology. Said EGFR molecular vaccine exhibits an enhanced anti-tumor effect through the synergistic action of other immunopotentiator.

[见续页]



(57) 摘要

本发明提供了一种制备疫苗的方法。该方法包括：1)分析特定病原体的特异抗原；2)获得编码特异抗原的多核苷酸序列；3)获得与该多核苷酸序列有足够差异的多核苷酸序列；4)利用步骤3)中所得的多核苷酸序列制备疫苗。本发明也提供了抗肿瘤疫苗，特别是 EGFR 分子疫苗。抗肿瘤 EGFR 分子疫苗是利用经现代生物工程技术改造进化的或在生物进化过程中形成的来源于人或其他异种生物的同源 EGFR 分子作为抗原而构建的各种新生物技术疫苗，包括蛋白疫苗、基因疫苗、病毒疫苗、基因修饰疫苗和稳定转化共生菌。EGFR 分子疫苗的一个重要生物学功能就是对各种过表达 EGFR 分子的实体瘤，包括肺癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌、胃癌等，都具有抗肿瘤作用效应，包括保护性抗肿瘤作用、治疗性抗肿瘤作用以及抗肿瘤转移作用。EGFR 分子疫苗的抗肿瘤作用机制在于：EGFR 分子作为免疫交叉抗原，能打破机体对自身 EGFR 分子的免疫耐受，诱导机体产生针对 EGFR 分子自身免疫样交叉反应，包括主动免疫反应（细胞免疫反应和体液免疫反应）和被动免疫反应（过继免疫反应）。抗肿瘤 EGFR 分子疫苗可以是常规制剂（水剂、冻干粉），也可以是利用纳米生物技术制备而成的纳米粒制剂。EGFR 分子疫苗的抗肿瘤作用还可在其它免疫促进因子的协同作用下得到增强。

疫苗制备方法和抗肿瘤疫苗

技术领域

本发明涉及生物技术领域，具体而言涉及一种疫苗制备方法和制备的生物疫苗，特别是新型的抗肿瘤疫苗，如 EGFR 分子疫苗。分子疫苗属新生物技术药物（New Biotechnological drug）范畴，涉及到多种生物技术，如 PCR 技术、分子克隆技术、基因表达技术、现代疫苗技术、以及生物技术药物学和药剂学等。

背景技术

疫苗(vaccine)是一种能刺激机体免疫系统产生抗特异性靶物质(如病毒、细菌等)的免疫反应的物质。经典的疫苗概念来源于抗感染免疫，它主要是使用处理过的病原微生物(如病毒、细菌等)及其衍生物免疫机体产生体液免疫反应以预防感染性疾病。比如，灭活疫苗(inactivated vaccine)是利用化学方法杀死实际感染成分的衍生物。弱毒疫苗(attenuated vaccine)是改变过的活病毒或细菌使其在接种的生物体内不能增殖。这两类疫苗都是通过表面蛋白(抗原)作用于 B 和 T 淋病细胞来进行免疫的。当病原体生物感染人体时，B 和 T 淋病细胞就会迅速作出反应，在病原微生物产生破坏之前将其消灭。然而，这两类疫苗潜藏着危险，因为它们能被传染性病菌所污染。例如，每年总有一小部分儿童因为接种脊髓灰质炎疫苗而感染此病。因此，一个发展方向是亚单位疫苗(subunit vaccine)。亚单位疫苗是利用 DNA 重组技术生产的单纯由表面蛋白组成、能引起免疫系统反应的疫苗，也称为基因工程疫苗或者 DNA 重组疫苗。参见，基因工程学原理，马建岗，主编，西安交通大学出版社，p240，2001.11。除了上述采用病原体本身、其具有免疫原性的构成成分、以及基因表达产物外，也有人研究使用“裸”DNA 作为疫苗的基因疫苗，是由来源于病原体的一个抗原编码基因及作为其载体的质粒 DNA 组成。通过注射或粒子轰击等途径将基因疫苗导入人体后，这段基因可以在活体细胞中合成抗原蛋白，从而引起机体免疫反应。目前，基因表达文库免疫技术是发现免疫活性基因的最系统和客观的手段。参见，第四次浪潮：生物经济，封展旗，杨同卫，编著，经济管理出版社，p169-171，2000。

疫苗的主要作用在于预防疾病。现在也有应用疫苗来治疗疾病。所以，针对正常的人体和动物体而言，疫苗的作用在于增强机体的防病和抗病能力，起到预防疾病的目的；对于患有某种疾病或者病患的人体和动物体而言，疫苗的作用在于诱导机体产生针对特定致病因素的反应，达到消除病灶，治疗疾病或者病患的

目的。可以认为疫苗就是通过影响机体的免疫系统达到预防，或者治疗，或者预防和治疗疾病或者病患的物质的总称。

动物体内细胞分裂调节失控而无限增殖的细胞称为肿瘤细胞 (tumor cell)。具有转移能力的肿瘤称为恶性肿瘤 (malignancy)，上皮组织的恶性肿瘤称为癌。参见，细胞生物学，翟中和等，主编，高等教育出版社，p423-427，2000 (2001 重印)。对于肿瘤的起源和宿主对于肿瘤的应答已经进行了大量的基础研究和临床应用研究。关于起源，已经显示大量的环境因素对于动物具有致癌性和致突变性。有些肿瘤事实上与暴露于某种特定的物质有关 (例如石棉与造船厂工人的间皮瘤)。已知病毒也可以诱发动物肿瘤，例如乙型肝炎病毒与肝癌有关。宿主免疫应答在许多情况下产生以抵抗肿瘤，而在某些情况下可能是保护性的。

肿瘤细胞和正常细胞可以根据其抗原的质和量的差异区分开来。肿瘤细胞的抗原，特别是肿瘤特异抗原为肿瘤细胞特有，成为肿瘤预防和治疗中的研究重点。

用于肿瘤治疗的肿瘤疫苗 (cancer vaccine) 尤其具有重要的意义。这种治疗性疫苗不同于传统的预防性疫苗，主要用于治疗已罹患癌症的病人，其目的以激发患者机体对肿瘤的特异性免疫应答，最终达到有效的排斥。研制和开发新型肿瘤疫苗已成为近年国际上肿瘤免疫治疗的热点，主要包括肿瘤细胞疫苗、基因修饰疫苗、多肽瘤苗和基因/DNA 疫苗等。

肿瘤细胞疫苗是将病人或者患病动物的肿瘤细胞通过物理或者化学方法处理后的具有治疗或者辅助治疗作用的完整的死细胞。处理方法可以是 X 光照射，有机溶剂处理等。这种疫苗被通过注射等方法施用于机体后，可以诱导或者增强病人对其肿瘤的免疫力。基因修饰疫苗、多肽瘤苗和基因/DNA 疫苗也均是通过利用肿瘤抗原及其片段，或者编码肿瘤抗原及其片段的多核苷酸，以及含有这些多核苷酸的载体或者细胞对于肿瘤进行治疗或者辅助治疗的疫苗。

如上所述，疫苗在疾病预防和/或治疗中具有重要作用。肿瘤作为一种严重的动物体细胞异常生长现象，随着环境污染的加剧，发生频率有所增强。因此开发新的疫苗，特别是肿瘤疫苗是必须的。本发明提供了一种制备疫苗的新方法，提供了一种新型肿瘤疫苗—EGFR 分子疫苗 (EGFR molecular vaccine)，满足了上述需要。

发明概述

第一个方面，本发明提供了一种制备疫苗的方法。该方法包括：

- 1) 分析特定病原体的特异抗原；
- 2) 获得编码特异抗原的多核苷酸序列；
- 3) 获得与该多核苷酸序列有足够差异的多核苷酸序列；
- 4) 利用步骤 3) 中所得的多核苷酸序列制备疫苗。

第二个方面，本发明提供了一种制备肿瘤疫苗的方法。该方法包括：

- 1) 分析动物体内的肿瘤细胞的特异抗原;
- 2) 获得编码特异抗原的多核苷酸序列;
- 3) 获得与该多核苷酸序列有足够差异的多核苷酸序列;
- 4) 利用步骤 3) 中所得的多核苷酸序列制备疫苗。

第三个方面, 本发明提供了一种制备 EGFR 疫苗的方法。该方法包括:

- 1) 分析动物体内的肿瘤细胞的 EGFR 抗原;
- 2) 获得编码特异抗原的多核苷酸序列;
- 3) 获得与该多核苷酸序列有足够差异的多核苷酸序列;
- 4) 利用步骤 3) 中所得的多核苷酸序列制备疫苗。

第四个方面, 本发明提供了一种核酸疫苗, 其中含有与编码一种病原体上的一种特定抗原的多核苷酸序列有一定的差异, 而且其同源性需要达到一定数值的多核苷酸序列。疫苗中所含多核苷酸序列与病原体中该特定抗原的多核苷酸序列所编码的多肽的同源性为 30-95%。

第五个方面, 本发明提供了一种核酸疫苗, 其中含有与编码一种病原体上的两种或者两种以上特定抗原的多核苷酸序列有一定的差异, 而且其同源性分别要达到一定数值的两种或者两种以上多核苷酸序列。疫苗中所含多核苷酸序列与病原体中相应的特定抗原的多核苷酸序列所编码的多肽的同源性为 30-95%。

第六个方面, 本发明提供了一种蛋白质或者多肽疫苗, 其中含有与一种病原体上的一种特定抗原的蛋白质部分中的氨基酸序列有一定的差异, 而且其同源性为 30-95% 的蛋白质或者多肽分子。

第七个方面, 本发明提供了一种蛋白质或者多肽疫苗, 其中含有与一种病原体上的两种或者两种以上特定抗原的蛋白质部分中的氨基酸序列有一定的差异, 而且其同源性为 30-95% 的两种或者两种以上蛋白质或者多肽分子。

第八个方面, 本发明提供了一种表皮生长因子受体 (EGFR) 核酸疫苗, 其中含有与编码一种生物体内的 EGFR 分子的基因中的核苷酸序列有一定的差异, 而且其同源性需要达到一定数值的一种多核苷酸序列。疫苗中所含多核苷酸序列编码的表皮生长因子受体与该生物体内的表皮生长因子受体中的氨基酸序列的同源性为 30-95%。

第九个方面, 本发明提供了一种表皮生长因子受体 (EGFR) 核酸疫苗, 其中含有与编码一种生物体内的 EGFR 分子的基因中的核苷酸序列有一定的差异, 而且其同源性需要达到一定数值的两种或者两种以上的多核苷酸序列。疫苗中所含多核苷酸序列编码的表皮生长因子受体与该生物体内的表皮生长因子受体中的氨基酸序列的同源性为 30-95%。疫苗中所含的两种或者两种以上的多核苷酸序列可以具有不同的来源, 其与该生物体内的 EGFR 分子的基因中的核苷酸序列的同源性可以不同。

第十个方面, 本发明提供了一种表皮生长因子受体 (EGFR) 蛋白质或者多肽

疫苗，其中含有与一种生物体内的 EGFR 分子的变体。疫苗中所含表皮生长因子受体的氨基酸序列与该生物体内的表皮生长因子受体中的氨基酸序列的同源性为 30-95%。

第十个方面，本发明提供了一种表皮生长因子受体（EGFR）蛋白质或者多肽疫苗，其中含有与两种或者两种以上的与生物体内 EGFR 分子不同的变体。疫苗中所含表皮生长因子受体的氨基酸序列与该生物体内的表皮生长因子受体中的氨基酸序列的同源性为 30-95%。

第十一个方面，本发明提供了的表皮生长因子受体核酸疫苗和表皮生长因子受体蛋白质或者多肽疫苗用于肿瘤预防和治疗中的用途。

发明详述

在此所用，“病原体”是指侵入生物体的外来生物体，包括细菌、病毒、真菌、原虫、蠕虫等，它们可以侵入另外的生物体中，导致一定的疾病或者疾病状态。

在此所用，“肿瘤细胞”是指生物体内发生了生长和分裂失控，脱离了衰老和死亡的正常途径的细胞。“肿瘤细胞”群构成肿瘤组织。在本发明中，术语“肿瘤”是以其广义而言，包括任何类型的细胞不正常的增殖，也指肿瘤组织或者肿瘤细胞，需要对这种增殖予以遏制或者将这些细胞以及组织予以抑制或者消除。

在此所用，“生物体”是指动物体，尤其指“人体”。对于存在有免疫系统的动物，本发明的方法和疫苗均可以适用。

可以利用本技术领域的基础研究结果或者已知的方法确定病原体或者肿瘤细胞中的特定抗原作为制备本发明所述疫苗的靶标。由于特定病原体或者体内的异常细胞具有特定的标记分子，比如它们的特定抗原，所以，以这些分子作为靶标，可以设计疫苗来激发生物体针对这些有害物质、生物或者细胞的免疫反应，达到防病和治病的目的。

从 GenBank 等公开的数据库，或者众多的网站上可以找到相应的有用抗原的基因序列，或者其氨基酸序列。根据中心法则，利用氨基酸序列或者基因序列进行推导所得的序列也可以应用于本发明中。有用的网站包括，但不限于，
<http://www.sanger.ac.uk/Projects/Microbes>.
<http://bioweb.pasteur.fr/Genoist/TubercuList>.

在本发明中，使用的针对靶抗原的核酸序列或者多肽的氨基酸序列不同于编码该靶抗原的蛋白质或者多肽部分的核酸序列或者其氨基酸序列。其同源性以编码产物而言为 30-95%。

同源性通常用序列分析软件来测定。在上下文中对于两种多肽序列，术语“同源性”指相同或具有特定百分比的氨基酸残基的两个或多个序列，当在同一比较窗口或指定区域内尽可能一致地比较或对齐时，所述氨基酸残基是相同的，这正如用大量序列比较算法或通过人工对齐和视觉观察所测定那样。

对于序列比较，通常一个序列作为参考序列，测试序列与其进行比较。当使用序列比较算法时，将测试序列和参考序列输入计算机，指定序列算法程序参数。然后用序列比较算法基于程序参数计算测试序列相对于参考序列的序列同源性百分比。在本发明中，某种选定的抗原中的氨基酸序列作为参考序列，疫苗中核苷酸序列的编码序列或者疫苗中的蛋白质或者多肽中的氨基酸序列就是测试序列，该测试序列与参考序列的同源性是本发明的一个方面。

如果将靶抗原的核酸序列或者多肽的氨基酸序列看作“母序列或者参考序列”，那么本发明所用的核酸序列或者多肽的氨基酸序列可以看作“子序列或者衍生序列”。

“母序列或者参考序列”的来源可以是现有技术，比如上面提到的数据库，网站，公开的发明和论文等。它们也可以来源于对特定抗原，不论微生物抗原还是体内肿瘤的抗原的研究。可以是对基因组，染色体，蛋白质或者多肽，mRNA，DNA 分子进行研究和分析获得母序列或者参考序列或者其序列信息。

“子序列或者衍生序列”是由“母序列或者参考序列”演变而来的序列，它们与“母序列或者参考序列”有一定的差异，但是又不是完全不同。“子序列或者衍生序列”可以是自然界已经存在的与“母序列或者参考序列”具有结构上关联的序列，也可以是通过人工方法得到的序列。前者是指不同生物或者生物个体内存在的编码同源蛋白的序列。比如，人表皮生长因子受体的编码序列和小鼠表皮生长因子受体的编码序列，可以将它们看作本发明所称“母序列”与“子序列”的关系，或者“参考序列”与“衍生序列”的关系。这种称呼可以相互交换。比如将小鼠表皮生长因子受体的编码序列看作“母序列”，则人表皮生长因子受体的编码序列被看作“子序列”；或者人表皮生长因子受体的编码序列被看作“母序列”，小鼠表皮生长因子受体的编码序列看作“子序列”。也可以以“母序列或者参考序列”为起始物质，经过突变或者修饰得到“子序列或者衍生序列”。还可以通过人工合成方法得到与“母序列或者参考序列”有点差异的“子序列或者衍生序列”。通过检索有关数据库，在计算机上运行有关程序得到“母序列或者参考序列”的“子序列或者衍生序列”，然后通过人工合成得到具有“子序列或者衍生序列”的核酸、蛋白质以及其片段的物质。通过筛选有关分子文库，也可以得到本发明所称“子序列或者衍生序列”。具有“子序列或者衍生序列”的核酸，核酸片段，寡核苷酸，多核苷酸以及具有“子序列或者衍生序列”的蛋白质，多肽，及其片段可以用于本发明的实施中。在本发明实施中，对这些具有“子序列或者衍生序列”的核酸，核酸片段，寡核苷酸，多核苷酸以及具有“子序列或者衍生序列”的蛋白质，多肽，及其片段可以进行各种修饰。也可以将它们包括在适当的载体或者细胞或者病毒中，达到本发明的发明目的。上述用于本发明实施中的各种物质可以是分离的，可以是纯化的；它们之间也可以是混合的，还可以混合进一定物质，比如佐剂。

此处所用，短语“核酸”或“核酸序列”指寡核苷酸、核苷酸、多核苷酸，或指寡核苷酸、核苷酸、多核苷酸中任一种的片段，指基因组或合成来源的 DNA 或 RNA，指肽核酸(PNA)，或者指任何天然或合成来源的类似 DNA 或类似 RNA 的物质。

特定多肽或蛋白质的“编码序列”或“编码特定多肽或蛋白质的核苷酸序列”是当在置于适当调节序列控制下时被转录或翻译到多肽或蛋白质中的核酸序列。

术语“基因”指涉及产生多肽链的 DNA 片段；包括编码区之前和之后的区（前导区和非转录尾区），以及适当的时候，包括个体编码片段（外显子）之间的间插序列（内含子）。

正如此处所用，“氨基酸”或“氨基酸序列”指寡肽、肽、多肽或蛋白序列，或指寡肽、肽、多肽或蛋白序列中任意一种的片段、部分或亚单位，指天然分子或合成分子。

正如此处所用，术语“多肽”指通过肽键或修饰的肽键即肽等排物（peptide isostere）彼此连接在一起的氨基酸，并且可以含有除了 20 个由基因编码的氨基酸以外的修饰氨基酸。多肽可以通过任一种天然方法修饰，如翻译后加工，或通过本技术领域已知的化学修饰技术修饰。修饰可以发生在多肽中的任何地方，包括肽骨架、氨基酸侧链和氨基末端或羧基末端。应该意识到，在给定的多肽中，相同类型的修饰可以在数个位点以相同或变化的程度存在。而且，给定的多肽可以具有许多类型的修饰。这些修饰包括乙酰化作用、酰化作用、ADP-核糖基化作用、酰胺化作用、黄素的共价附着、亚铁血红素部分的共价附着、核苷酸或核苷酸衍生物的共价附着、脂质或脂质衍生物的共价附着、交联环化、二硫键形成、脱甲基作用、共价交联的形成、半胱氨酸的形成、焦谷氨酸的形成、甲酰化作用、 γ -羧化作用、糖基化作用、GPI 锚形成、羟基化作用、碘化作用、甲基化作用、豆蔻酰化、氧化、蛋白水解加工、磷酸化作用、异戊二烯化、外消旋作用、硒化作用、硫酸化作用、t-RNA 介导的将氨基酸加入到蛋白质的过程如精氨酰化。（参考 Creighton, T.E., *Proteins-structure and Molecular Properties* 第二版, W.H. Freeman and Company, New York (1993); *Posttranslational Covalent Modification of Proteins*, B.C. Johnson 编著, Academic Press, New York, 1-12 页(1983)）。

正如此处所用，术语“分离的”指物质离开其原始环境（例如，如果是天然存在的，则离开其天然环境）。例如，存在于活的动物体内的天然存在的多核苷酸或多肽不是分离的，但从天然系统中的一些或全部共存物质中分离出的相同多核苷酸或多肽是分离的。这样的多核苷酸可以是载体的一部分，和/或这样的多核苷酸或多肽可以是组合物的一部分，它们仍然是分离的，原因在于这些载体或组合物不是天然环境的一部分。

正如此处所用，术语“纯化的”不要求完全纯化；更确切地说，该术语是一个相对定义。

正如此处所用，术语“重组的”指核酸与“骨架”核酸相邻，而在其天然环境中与“骨架”核酸不是相邻的。根据本发明的骨架分子包括核酸，如表达载体、自我复制核酸、病毒、整合核酸和其它用于维持或操纵相关核酸插入物的载体或核酸。

“重组的”多肽或蛋白质指通过重组 DNA 技术产生的多肽或蛋白质；即，通过编码期望多肽或蛋白质的外源 DNA 构建物转化的细胞产生的多肽或蛋白质。“合成的”多肽或蛋白质是那些通过化学合成制备的多肽或蛋白质。也可以固相化学肽合成方法来合成本发明的多肽或片段。这些方法自从 20 世纪 60 年代早期在本技术领域就已经已知 (Merrifield, R. B., J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2154, 1963) (也可以参见 Stewart, J. M. 和 Young, J. D., Solid Phase Peptide Synthesis, 第二版, Pierce Chemical Co., Rockford, Ill, 11-12 页)), 并且最近已经被用于可通过商业途径获得的实验室肽设计和合成试剂盒 (Cambridge Research Biochemicals)。这些可通过商业途径获得的实验室试剂盒通常使用了 H. M. Geysen 等人, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 81:3998(1984)的教导, 在大量“棒”或“针”的尖端上提供合成肽, 所有棒或针与单个板子相连接。当使用这样的系统时, 一个具有棒或针的板子被翻转, 且插入到具有相应孔或容器的第二个板子中, 所述孔或容器含有将适当氨基酸附着或固定到针或棒尖端的溶液。通过重复这一处理步骤, 即将棒或针的尖端翻转且插入到适当溶液中, 氨基酸就被构建到期望肽中。此外, 可以得到数量众多的 Fmoc 肽合成系统。例如, 多肽或片段的装配可以使用 Applied Biosystems, Inc. 提供的 Model 431A 自动肽合成仪在固体载体上进行。该肽合成仪提供了现成获取本发明所述肽, 或者通过直接合成或者通过合成一系列片段, 这些片段可以使用其它已知技术偶联。

当启动启动子转录的 RNA 聚合酶将编码序列转录到 mRNA 中时, 启动子序列与编码序列是“可操纵连接”的。

“质粒”由前面的小写字母“p”, 和/或其后的大写字母和/或数字标明。此处的起始质粒或者通过商业途径获得, 是不受限制地公开获得, 或者可以用与公开方法一致的方法从可获得的质粒构建而来。另外, 与此处所描述的质粒等效的质粒在本领域是已知的, 对于普通技术人员而言是明了的。在本发明中, 构建了一些典型的质粒, 参考附图 2。这些质粒是实施本发明的一种形式。

“寡核苷酸”或者指一个单链多脱氧核苷酸, 或者指两个互补的多脱氧核苷酸链, 它们可以化学合成。这样化学合成的寡核苷酸没有 5'磷酸, 因此在没有用 ATP 添加磷酸和存在激酶的情况下, 不会与另一个寡核苷酸连接。合成寡核苷酸将与没有发生去磷酸化作用的片段连接。

正如此处所用, “片段”是天然存在的蛋白质的一部分, 其可以以至少两种不同的构象存在。片段可以具有与天然蛋白质相同或基本上相同的氨基酸序列。“基本上相同”指氨基酸序列大部分是相同的, 但不是完全相同。

术语“变体”指在一个或多个碱基对、密码子、内含子、外显子或氨基酸残基（分别地）被修饰而不同于本发明的“母序列或者参考序列”。变体可以通过很多方法产生，这些方法包括，例如易错 PCR、改组、寡核苷酸介导的诱变、装配 PCR、有性 PCR 诱变、体内诱变、盒式诱变、递归集团诱变（recursive ensemble mutagenesis）、指数集团诱变（exponential ensemble mutagenesis）、位点特异性诱变、基因再装配、GSSM 及其任意组合。

从又一个方面来说，本发明所述的“子序列或者衍生序列”可以看作“母序列或者参考序列”的“变体”。因为它们在结构上与抗原中的“母序列或者参考序列”具有一定的相似性，而且又具有一定的差异。所以含有“子序列或者衍生序列”的物质可以诱发机体针对该抗原的免疫反应，尤其可以打破机体对该抗原业已产生的耐受性。其实，真是由于本发明所述疫苗中所用物质与抗原结构有一定相同性，机体发动的针对本发明疫苗中的物质的免疫反应就会交叉作用于该抗原。同时因为本发明所述疫苗中所用物质与抗原结构有一定差异，所以本发明的疫苗特别适用于诱发机体针对产生耐受性的抗原进行反应。

以下以 EGFR 分子疫苗为例来说明本发明的方法。事实上，本发明并不限于 EGFR 分子疫苗，本技术领域技术人员根据本发明的教导可以方便地将本发明的方法用于其他疫苗的制备中。本发明更重要的价值在于提出了一种制备疫苗，特别是打破机体耐受性的方法；尤其在于肿瘤治疗上有重要价值。

EGFR 分子疫苗就是利用经现代生物工程技术改造进化的或在生物进化过程中形成的来源于人或其他异种生物的同源 EGFR 分子作为抗原而构建的各种新生物技术疫苗，包括重组蛋白疫苗、重组基因疫苗、重组病毒疫苗、基因修饰疫苗和稳定转化共生菌。这是一种新型概念的肿瘤疫苗。

同源 EGFR 分子就是指与人 EGFR 分子在氨基酸或核苷酸水平上存在不同程度的相同程度的其它物种来源（如小鼠、大鼠、鸡、鲑、果蝇等，见 SEQ ID NO 1-14）或人工进化的 EGFR 分子的总称。

人表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor, EGFR）是一种分子量为 170KD 的跨膜单链糖蛋白，由 1186 个氨基酸组成，具有酪氨酸蛋白激酶（PTK）活性。EGFR 由胞外配体结合区、跨膜疏水区、近膜区、PTK 活性区和受体 C 端尾肽五个部分组成。EGFR 有多种不同形式的转录方式（见 SEQ ID NO 1-5），还有多种三种突变体，其中主要的突变体是第 III 类 EGFRvIII（又称 Δ EGFR 或 de2-7EGFR，见 SEQ ID NO 6），是恶性肿瘤细胞膜上所特有的，具有高度的肿瘤特异性。人 EGFR 分子是一类基因家族，除 EGFR（亦称 c-erbB1/HER1）外其它家族成员还包括 c-erbB2/HER2、c-erbB3/HER3 和 c-erbB4/HER4，它们分别编码膜蛋白 p185erbB2、p160 erbB3、p180 erbB4。虽然这些成员具有高度同源的氨基酸序列和相似的结构特征，但配体各不相同。本发明所涉及的肿瘤疫苗靶分子是 EGFR（c-erbB1/HER1），不包括 c-erbB2/HER2、c-erbB3/HER3 和 c-erbB4/HER4。

EGFR 分子的配体 EGF 或 TGF-可通过自分泌(autocrine)或旁分泌(paracrine)等途径作用于 EGFR, 使其 PTK 活化, 经过一系列的信号传递, 继而导致细胞的分裂增殖。

EGFR 广泛分布于正常的哺乳动物上皮细胞表面, 平均每个细胞的受体数为 5-10 万。多种肿瘤细胞如肺癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌、胃癌、膀胱癌、头颈部鳞癌和胶质瘤等, 都过量表达 EGFR, 数量可达 $1-3 \times 10^6$ /细胞。以肺癌为例, EGFR 的过量表达还与肺癌的浸润、转移和预后密切相关。因此, EGFR 被认为是肿瘤治疗的一个理想的靶分子。目前, 以 EGFR 为靶分子的治疗, 主要表现为 EGFR 单克隆抗体和小分子化合物。此外, 以 EGFRvIII 为靶分子的肿瘤肽疫苗、以及利用反义核酸技术进行基因治疗等取得了一些有益的进展。以 EGFR 分子为靶分子设计抗肿瘤分子疫苗, 目前尚无任何文献报道和专利报告。

肿瘤细胞在其恶性转化、增殖的过程中要产生一种或多种肿瘤抗原。然而, 在大多数情况下, 肿瘤抗原的免疫原性较弱, 并不足以引起机体的主动免疫反应。从免疫学的角度看, 肿瘤细胞就是一种能不断表达“正常”抗原(基因过度表达)和/或“异常”抗原(基因修饰、突变或缺失等)的宿主体内“自身”组织细胞, 因此肿瘤抗原可看作是自体抗原。在正常情况下, 机体对自体抗原不产生免疫应答, 即呈现出免疫耐受。事实上, 自体抗原是宿主免疫系统必须耐受的最相关和最丰富的抗原。自体抗原耐受的诱导和维持是由多种机制介导的, 它们能防止对正常组织的不适当破坏。然而, 当机体隐蔽的抗原释放、或生物、物理与化学等因素使自体抗原发生改变等情况下, 却可导致自体免疫反应, 造成靶抗原所在的细胞、组织或器官的病理性损伤和功能障碍。这样, 如果能使肿瘤细胞隐蔽的自体抗原释放或者使其发生某种改变的话, 则可能因此诱导出机体对自身肿瘤细胞的特异性自体免疫反应, 从而使肿瘤缩小乃至消退。如前文所述, EGFR 分子在多种肿瘤中过量表达, 因此, EGFR 分子可看作是一种肿瘤抗原, 也是一种自体抗原。因此, 可对 EGFR 抗原分子(见 SEQ ID NO 1-6)进行各种生物技术改造, 制备成分子疫苗, 从而诱导抗肿瘤免疫反应, 达到抗肿瘤作用的目的。

生物在进化过程中, 不同物种之间存在着具有不同程度同源性的分子, 如 EGFR 分子就广泛存在于人、鼠、果蝇、鱼类、鸟类等生物, 它们相互之间存在不同的同源性程度, 人的 EGFR 分子在氨基酸水平上与鼠、鸡和果蝇的 EGFR 分子的同源性分别为 90%、64%和 32%。我们可以利用异种同源分子在进化过程中所形成的细微差别来打破免疫耐受、增强免疫原性、诱导肿瘤细胞的自体免疫反应进而达到抗肿瘤的目的。这其中的机制很可能是: 由于在进化过程中同源基因的中性突变虽不导致其功能的丧失或改变, 但却可能影响到或改变了其免疫应答的方式。当异种同源基因导入到受试对象体内表达出相应的异种同源蛋白, 受试者将之识别为外来抗原, 一方面产生相应的抗体或细胞毒性淋巴细胞来清除它, 另一方面由于这些表达出的异种同源蛋白与受试者体内相应的蛋白分子存在某种

程度上的差异而与之产生非特异性的交叉反应，从而诱导自身免疫反应，打破机体对自身的这种蛋白的免疫耐受（见说明书附图 1）。

如前文所述，人的 EGFR 与其他物种（如鼠、鸡、果蝇等）的 EGFR 在氨基酸水平上表现出不同程度的同源性，通过 BLAST 分析发现人的 EGFR 在氨基酸水平上与鼠、鸡和果蝇的同源性分别 90%、64%和 32%。我们利用异种同源 EGFR 分子产生的种与种之间的免疫交叉反应来诱导机体的主动免疫反应，克服自身肿瘤细胞的免疫耐受，通过其产生的抗体竞争性抑制 EGFR 与配体 EGF 或 TGF- 的结合，从而抑制肿瘤细胞的生长，此外还通过其所诱导的 CTL 来抑制肿瘤细胞的生长。

此外，现代生物工程技术的发展，如易错 PCR 技术、DNA“洗牌术”（DNA shuffling）、噬菌体展示技术等，为 EGFR 分子的人工基因直接进化（gene directed evolution）提供了技术支持。

本发明涉及抗肿瘤 EGFR 分子疫苗，包括自体 EGFR 分子疫苗（autologous EGFR vaccine）、异种 EGFR 分子疫苗（xenogeneic EGFR vaccine）和基因直接进化 EGFR 分子疫苗（directed evolution EGFR Vaccine）。

本发明主要涉及一种新型的肿瘤疫苗——EGFR 分子疫苗，它是利用经现代生物工程技术改造的或在生物进化过程中形成的来源于人或其他异种生物的同源 EGFR 分子作为抗原而构建的各种新生物技术疫苗，包括蛋白疫苗、基因疫苗、病毒疫苗、基因修饰疫苗和稳定转化共生菌。EGFR 分子疫苗对各种过表达 EGFR 分子的实体瘤都具有抗肿瘤作用效应，其抗肿瘤作用机制在于：EGFR 分子作为免疫交叉抗原，能打破机体对自身 EGFR 分子的免疫耐受，诱导机体产生针对 EGFR 分子自身免疫样交叉反应。抗肿瘤 EGFR 分子疫苗也可以是利用纳米生物技术制备而成的纳米粒制剂。

一、EGFR 分子的来源、选择与改造

本发明涉及的 EGFR 分子包括自体 EGFR 分子（autologous EGFR molecule）和异种 EGFR 分子（xenogeneic EGFR molecule）和基因直接进化 EGFR 分子（directed evolution EGFR molecule）。

利用在生物进化过程中形成的或经现代生物工程技术改造的同源 EGFR 分子的差异性进行抗肿瘤免疫治疗是本发明的最大特征。

EGFR 在自然界中分布广泛，从哺乳动物（如人、鼠等）、鸟类（如鸡等）、鱼类（如鲑等）到低等生物（如线虫、果蝇等）都有 EGFR 的表达，这些生物来源的 EGFR 分子之间都存在一定的差异，其同源性程度在 30-100%之间。本发明所涉及的异种 EGFR 分子的同源性在 30-95%之间，主要涉及的生物物种是人、鼠、鸡和果蝇，在氨基酸水平上，人的 EGFR 分子与鼠、鸡和果蝇的 EGFR 分子的同源性分别为 90%、64%和 32%，人、鼠、鸡和果蝇的 EGFR 分子分别代表了本发明中所涉及的同源性程度的监测点。

自体 EGFR 分子由于存在免疫耐受, 故免疫原性较弱。利用现代生物工程技术可对自体 EGFR 分子进行人工直接进化 (gene directed evolution) 和改造, 增强 EGFR 分子作为抗原的免疫原性。通常是利用易错 PCR、随机引物延伸技术和 DNA“洗牌”术 (DNA shuffling) 等对自体 EGFR 分子进行人工突变, 建立基因突变库, 然后使用噬菌体展示技术 (phage display)、核糖体展示技术 (ribosome display) 等进行筛选, 从而得到免疫原性强的 EGFR 分子。

此外, 利用细菌、病毒等不同生物的表达修饰系统的差异, 也可以在蛋白质水平上对自体 EGFR 分子进行人工改造, 增强自体 EGFR 的免疫原性。

二、EGFR 重组基因疫苗

基因疫苗是利用现代分子生物学技术构建制备的以核酸为基础的新型疫苗, 主要是 DNA 疫苗。

本发明的 EGFR 分子疫苗之一就是 DNA 疫苗。依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的各种生物来源 (如人、小鼠、大鼠、鸡、鲐、果蝇等, 见 SEQ ID NO 1-14) 的 EGFR 分子的序列 (包括基因、cDNA、mRNA 和氨基酸序列) 按常规方法设计引物或探针, 用 PCR、RT-PCR、杂交等技术, 从各种商品化的基因文库、cDNA 文库或各种细胞系、组织等中克隆分离出不同种属生物来源的 EGFR 分子的胞外区段的 cDNA (发明人发现 EGFR 胞外区段才是引起免疫反应的反应域), 或进一步用基因直接进化技术筛选到的具有强免疫原性的 EGFR 分子。各种来源的 EGFR cDNA 的胞外段序列经测序鉴定后, 用分子克隆技术构建其真核生物表达质粒系统, 然后转染入 CHO 细胞系, 观察并检测其表达 EGFR 的情况和水平。各重组 EGFR 分子的真核生物表达质粒可经过限制性酶切分析、SDS-PAGE 和 Western Blot 等进行鉴定、确证。用碱法抽提经过鉴定的重组 EGFR 分子表达质粒, 用超离心、超滤等方法去除大肠杆菌内毒素, 即得到纯净的质重组粒 DNA, 这些质粒 DNA 即可作为 DNA 疫苗进行免疫。

DNA 分子疫苗的代表性质粒图谱如图 2A 所示, 其具体构建过程简要叙述如下: 依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列 (分别对应于 SEQ ID NO 1-5, 7-9, 19) 设计 PCR 引物 (人的引物为: 5'GACCATG GAGGAAAAGAAAGTTTGC 3', 5'ACGAATTCTTAGGACGGGATCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为: 5'GACCATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'ACGAATTC TTAATAGATGGTATCTTTGGC 3'; 鸡的引物为: 5'GACCATGGAGGAGAAGAA AGTTTGTG 3', 5'ACGAATTCTTAAGATGGAGTTTGGAGCC 3'), 分别以人肺癌细胞株 A431、小鼠肺癌细胞株 LL2 和鸡胚的总 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增, 电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段 (均为 1.9kb), 然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后, 用 NcoI 和 EcoRI 酶切, 收集 1.9kb 片段并纯化, 插入到用 NcoI 和 EcoRI 双酶切的 pORF-MCS (InvivoGen 公司) 载体, 筛选重组质粒。候选的重组质粒经限制性酶切分析及 PCR 扩增等双重鉴定, 命名为 pORF-hEGFR、

pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR。至于 pcDNA-hEGFR、pcDNA-mEGFR 和 pcDNA-chEGFR 的构建过程与上述方法一致 (pcDNA3.1(+)) 载体来源于 Invitrogen 公司), 只是 PCR 引物略有改动, 分别是: 人的引物 5'GAGCTAGCATGGAGGAAAAGAAAGTTTGC 3', 5'CACTCGAGTTAGGACGGGATCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为: 5'GAGCTAGCATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'CACTCGAGTTAATAGATGGTATCTTTGGC 3'; 鸡的引物为: 5'GAGCTAGCATGGAGGAGAAAGAAAGTTTGC 3', 5'CACTCGAGTTAAGATGGAGTTTGGAGCC 3'。

用人的 EGFR 基因胞外区段构建和制备 DNA 疫苗免疫 Lewis 肺癌的模型小鼠, 发现免疫后的第 8 周, 注射人 EGFR 疫苗的小鼠生存率为 78%, 明显高于注射过小鼠 EGFR 疫苗(25%)和对照实验动物(10%~15%), 同时并未发现模型小鼠的肺、肝、心、肾等有病理性改变, 进一步的研究表明诱导的自体免疫反应主要依赖于 CD4⁺ T 淋巴细胞, CTL 活性检测没有发现靶细胞特异性的杀伤效应。免疫组化结果显示肿瘤组织有自身抗体沉着, 而肺、肝等组织则没有, 自身反应抗体主要为 IgG。

以 EGFR 分子为模板设计的各种反义 RNA 和 RNAi 可看作是 EGFR 重组基因疫苗的特例, 它主要不是通过提高 EGFR 分子的免疫原性, 诱导产生抗 EGFR 抗体和特异性的 CTL, 进而阻断 EGFR 信号通路, 诱导肿瘤细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞的生长和扩散, 而是在 DNA 和 RNA 水平上直接抑制和阻断 EGFR 分子的表达。

三、EGFR 重组蛋白疫苗

蛋白疫苗是比较传统形式的疫苗, 但蛋白质有较好的免疫原性。本发明的 EGFR 分子疫苗之一就是重组蛋白疫苗, 包括以各种大肠杆菌重组表达载体、酵母重组表达载体、棒状病毒重组表达载体等表达系统表达出的重组蛋白所构建而成的疫苗。

利用分子克隆技术 (如 PCR、RT-PCR、杂交等技术) 从各种商品化的基因文库、cDNA 文库或各种细胞系、组织等中克隆分离出不同种属生物来源的 EGFR 分子的胞外区段的 cDNA, 或进一步用基因直接进化技术筛选到的具有强免疫原性的 EGFR 分子, 然后用分子克隆技术构建其原核生物表达质粒系统, 转化合适的大肠杆菌宿主, 观察并检测其表达 EGFR 的情况和水平。各重组 EGFR 分子的表达质粒可经过限制性酶切分析、SDS-PAGE 和 Western Blot 等进行鉴定、确证。经确证的重组 EGFR 分子原核表达质粒转化 E.coli, 大量培养重组菌落, 低温离心收集菌体, 菌体经 PBS 重悬后用超声法破碎细胞, 用离子交换层析、亲和层析等方法分离纯化重组 EGFR 蛋白, 此重组的 EGFR 蛋白质即可作为蛋白疫苗进行免疫。

E.coli 表达的重组 EGFR 蛋白疫苗的代表性质粒图谱如图 2B 所示, 其具体构建过程简要叙述如下: 依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列 (分别对应于 SEQ ID NO 1-5, 7-9, 19) 设计 PCR 引物 (人的引物为: 5'GACCATGGAGGAAAAGAAAGTTTGC 3', 5'ACAGATCTAGG

ACGGGATCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为: 5'GACCATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'ACAGATCTATAGATGGTATCTTTGGC 3'; 鸡的引物为: 5'GACCATGGAGGAGAAGAAAGTTTGTC 3', 5'ACAGATCTAGATGGAGTTTTGAGCC 3'), 分别以 pORF-hEGFR、pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR 等为模板进行 PCR 扩增, 电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段 (均为 1.9kb), 然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后, 用 NcoI 和 BglII 酶切, 收集 1.9kb 片段并纯化, 插入到用 NcoI 和 BglII 双酶切的 pQE60 (QIAGEN 公司) 载体, 筛选重组质粒。候选的重组质粒经限制性酶切分析及 PCR 扩增等双重鉴定, 命名为 pQE-hEGFR、pQE-mEGFR 和 pQE-chEGFR。

除上述利用大肠杆菌重组表达系统表达各种来源的 EGFR 分子外, 还可以利用酵母重组表达系统、棒状病毒重组表达系统等表达 EGFR 重组蛋白, 从而制备重组蛋白疫苗。EGFR 重组蛋白疫苗的构建流程图见图 3。

酵母表达的重组 EGFR 蛋白疫苗的代表性质粒图谱如图 2C 所示, 其具体构建过程简要叙述如下: 依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列 (分别对应于 SEQ ID NO 1-5,7-9,19) 设计 PCR 引物 (人的引物为: 5'ATACTCGAGAAAAGAGAGCTGGAGGAAAAGAAAG 3', 5'GCTCTAGAATGGCACAGGTGGCACA 3'; 小鼠的引物为: 5'ATGCTCGAGAAAAGAGAGTTGGAGGAAAAGAAAGTC 3', 5'AAGCGGCCCGCCATAGATGGTATCTTTG 3'; 鸡的引物为: 5'ATACTCGAGAAAAGAGAGGTGGAGGAGAAGAAAG 3', 5'CGTCTAGAAGATGGAGTTTTGGAG 3'), 分别以 pORF-hEGFR、pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR 等为模板进行 PCR 扩增, 电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段 (均为 1.9kb), 然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后, 用 XhoI 和 XbaI (对小鼠的克隆为 XhoI 和 NotI) 酶切, 收集 1.9kb 片段并纯化, 插入到用 XhoI 和 XbaI 双酶切 (对小鼠的克隆为 XhoI 和 NotI 双酶切) 的 pPICZ A (Invitrogen 公司) 载体, 转化 E.coli 筛选重组质粒。候选的重组质粒经限制性酶切分析及 PCR 扩增等双重鉴定, 命名为酵母表达质粒 pYE-hEGFR、pYE-mEGFR 和 pYE-chEGFR。这些酵母表达质粒经 PmeI 酶切线性化后, 用电穿孔法转化酵母菌株 X33 或 GS115, 用 Zeocin 抗性筛选稳定转化子, 在 MMH (Minimal Methanol with histidine, MMH) 和 MDH (Minimal Dextrose with histidine, MDH) 琼脂平板上鉴定和挑选 Mut⁺转化子。挑选 6-10 个 Mut⁺转化子进行小规模表达, 用 SDS-PAGE、Western Blot、ELISA 等方法对所表达的重组蛋白进行鉴定。选择其中表达效率最高的 Mut⁺转化子做大规模表达, 建立各级酵母表达种子库。重组菌株大量摇瓶培养或发酵, 低温离心收集菌体, 菌体经 PBS 重悬后用超声法破碎细胞, 用离子交换层析、亲和层析等方法分离纯化重组 EGFR 蛋白, 此重组的 EGFR 蛋白质即可作为蛋白疫苗进行免疫。

同样地, 也可用其他的酵母表达系统构建类似的酵母重组表达质粒。

重组蛋白疫苗具有比 DNA 疫苗更强的诱导免疫交叉反应的作用, 产生高滴度的抗 EGFR 抗体以及特异性的 CTL, 从而抑制肿瘤细胞的生长和转移。

四、EGFR 重组病毒疫苗

重组病毒也是一种良好的分子疫苗转运系统, 这些重组病毒表达系统构建的分子疫苗包括重组腺病毒疫苗、Lentivirus 疫苗、腺病毒相关病毒疫苗、逆转录病毒疫苗、痘苗病毒疫苗和单纯疱疹病毒疫苗。

腺病毒载体是目前在肿瘤基因治疗中最有效的载体之一, 它具有滴度高、安全性好、能感染分裂或不分裂细胞、不整合插入染色体等优点。此外, 腺病毒还具有较强的免疫原性, 这对于基因治疗也许是一个缺点, 但在基因免疫治疗中却可能是一个很大的优点。重组腺病毒疫苗是 EGFR 重组病毒疫苗最重要的一种。同前文所述, 首先克隆出各种同种、异种或基因直接进化的 EGFR cDNA, 然后用分子生物学技术构建其重组腺病毒表达载体, 转染 293 细胞, 即得到重组的腺病毒。重组的腺病毒经 PCR、Western Blot 等加以确证。利用 293 细胞大量扩增经确证的 EGFR 重组腺病毒疫苗, 用超离心、超滤等技术分离、纯化重组腺病毒, 此经纯化的 EGFR 重组腺病毒即可作为疫苗进行免疫。EGFR 重组腺病毒疫苗的构建流程示意图见图 4。

EGFR 重组腺病毒是利用 AdEasy 系统构建而成的, 其具体构建过程简要叙述如下: 依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列 (分别对应于 SEQ ID NO 1-5,7-9,19) 设计 PCR 引物 (人的引物为: 5'GAAGATCTATGGAGGAAAAGAAAGTTTGC 3', 5'ACGATATCTTAAGGACGGGATCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为: 5'GAAGATCTATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'ACGATATCTTAATAGATGGTATCTTTGGC 3'; 鸡的引物为: 5'GAAGATCTATGGAGGAGAAGAAAGTTTGTG 3', 5'ACGATATCTTAAGATGGA GTTTTGGAGCC 3'), 分别以 pORF-hEGFR、pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR 等为模板进行 PCR 扩增, 电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段 (均为 1.9kb), 然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后, 用 *Bgl*II 和 *Eco*RV 酶切, 收集 1.9kb 片段并纯化, 插入到用 *Bgl*II 和 *Eco*RV 双酶切的 pShuttle-CMV (Quantum Biotechnologies 公司) 载体, 筛选重组质粒。候选的重组质粒经限制性酶切分析及 PCR 扩增等双重鉴定, 命名为腺病毒穿梭表达质粒 pShuttle-hEGFR、pShuttle-mEGFR 和 pShuttle-chEGFR (图 2D)。分别将经 *Pme*I 酶切的腺病毒穿梭表达载体 pShuttle-EGFR 与包含腺病毒基因组的骨架载体 pAdEasy-1 或 pAdEasy-2 共转化 *E.coli* BJ5183, 得到重组腺病毒载体质粒 pAd-hEGFR、pAd-mEGFR 和 pAd-chEGFR。这些重组腺病毒载体质粒经 *Pac*I 酶切后, 用磷酸钙-DNA 共沉淀法转染入腺病毒包装细胞株 293 细胞中, 得到相应的重组腺病毒 Ad-hEGFR、Ad-mEGFR 和 Ad-chEGFR。用 PCR、Western blot 等确证 EGFR 基因构建入重组腺病毒载体中并能在真核细胞中得到正确有效的表达。

根据 EGFR 重组腺病毒疫苗中所包含腺病毒基因组的不同, 又有 EGFR 重组 I 代腺病毒 (腺病毒穿梭表达质粒 pShuttle-EGFR 与 pAdEasy-1 的重组体, 命名为 Ad-hEGFR I、Ad-mEGFR I 和 Ad-chEGFR I) 疫苗和 EGFR 重组 II 代腺病毒 (腺病毒穿梭表达载体 pShuttle-EGFR 与 pAdEasy-2 的重组体, 命名为 Ad-hEGFR II、Ad-mEGFR II 和 Ad-chEGFR II) 疫苗之分。

此外, EGFR 重组腺病毒疫苗还可以用甘露聚糖 (Mannan) 等进行靶向修饰。

EGFR 重组腺病毒疫苗由于腺病毒良好的基因导入性, 能有效诱导机体产生抗肿瘤免疫反应, 抑制 EGFR 高表达肿瘤的生长。

Lentivirus 病毒载体是新一代的基因治疗载体, 它来源于 HIV-1 的复制缺陷型 lentivirus, 与传统的来源于的莫洛尼氏白血病病毒 (Moloney Leukemia Virus, MoMLV) 的逆转录病毒载体不同, 它对处于分裂和不分裂状态的哺乳动物细胞都能进行有效转染, 且生物安全性更好。此外, 与腺病毒载体不同的是, Lentivirus 病毒载体能整合到细胞染色体中, 从而使导入的外源基因获得稳定、长久的表达。重组 Lentivirus 病毒疫苗也是 EGFR 重组病毒疫苗较重要的一种。同前文所述, 首先克隆出各种同种、异种或基因直接进化的 EGFR cDNA, 然后用分子生物学技术构建其重组 Lentivirus 表达载体, 转染 293FT 细胞, 即得到重组的 Lentivirus 病毒。重组的 Lentivirus 病毒经 PCR、Western Blot 等加以确证。利用 293FT 细胞大量扩增经确证的 EGFR 重组 Lentivirus 病毒疫苗, 用超离心、超滤等技术分离、纯化重组 Lentivirus 病毒, 此经纯化的 EGFR 重组 Lentivirus 病毒即可作为疫苗进行免疫。EGFR 重组 Lentivirus 病毒疫苗的构建流程示意图见图 4B。

EGFR 重组 Lentivirus 病毒是利用 ViraPower™ Lentiviral Gateway® Expression Kit (Invitrogen 公司) 构建而成的, 其具体构建过程简要叙述如下: 依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列 (分别对应于 SEQ ID NO 1-5, 7-9, 19) 设计 PCR 引物 (人的引物为: 5'GACCATGGAGGAA AAGAAAGTTTGC 3', 5'ACGATATCAGGACGGGATCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为: 5'GACCATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'ACGATATCATAGATG GTATCTTTGGC 3'; 鸡的引物为: 5'GACCATGGAGGAGAAGAAAGTTTGTC 3', 5'ACGATATCAGATGGAGTTTTGGAGCC 3'), 分别以 pORF-hEGFR、pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR 等为模板进行 PCR 扩增, 电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段 (均为 1.9kb), 然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后, 用 NcoI 和 EcoRV 酶切, 收集 1.9kb 片段并纯化, 插入到用 NcoI 和 EcoRV 双酶切的 pENTR11 (Invitrogen 公司) 载体中, 筛选重组质粒, 命名为 pENTR-hEGFR、pENTR-mEGFR 和 pENTR-chEGFR (图 2E)。分别将这些载体 pENTR-EGFR 与包含 Lentivirus 病毒基因组的骨架载体 pLenti6/V5-DEST 共转化 E.coli DH5, 得到重组 Lentivirus 病毒载体质粒 pLenti-hEGFR、pLenti-mEGFR 和 pLenti-chEGFR (图 2E)。这些重组 Lentivirus 病毒载体质粒与包装混合物一起 (ViraPower™ Packaging

Mix) 用磷酸钙-DNA 共沉淀法转染入 Lentivirus 病毒包装细胞株 293FT 细胞中, 得到相应的重组 Lentivirus 病毒 Lenti-hEGFR、Lenti-mEGFR 和 Lenti-chEGFR。用 PCR、Western blot 等确证 EGFR 基因构建入重组 Lentivirus 病毒载体中并能在真核细胞中得到正确有效的表达。

五、EGFR 分子疫苗的修饰和改进

前文的重组 EGFR 分子疫苗(包括重组 EGFR 基因疫苗、蛋白疫苗和病毒疫苗)只是基本形式, 本发明还在高效性、特异性等方面有许多修饰和改进, 这些改进包括:

1. EGFR 分子疫苗佐剂的选择

合适的佐剂是有效提高疫苗的免疫效应的良好载体, 不同的疫苗形式有不同的佐剂。本发明 EGFR DNA 疫苗的佐剂主要是福氏佐剂和脂质体, EGFR 蛋白疫苗的佐剂主要是铝盐, EGFR 重组病毒疫苗通常不使用佐剂。

2. EGFR 基因修饰疫苗

基因修饰疫苗是指转染了人或其他异种生物的 EGFR 分子的细胞疫苗, 包括使用稳定转化的各种肿瘤细胞株、血管内皮细胞和树突状细胞制备的细胞疫苗、用各种重组病毒感染的肿瘤细胞或肿瘤组织制备的疫苗。EGFR 基因修饰疫苗是 EGFR 分子疫苗的一种特例形式。

前文已描述多种肿瘤包括肺癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌、胃癌、膀胱癌、头颈部鳞癌和胶质瘤等都高表达 EGFR, 但这些肿瘤均对 EGFR 耐受, 并不产生抗 EGFR 的免疫反应。但是, 利用基因修饰疫苗可打破免疫耐受, 产生抗 EGFR 免疫反应。用重组的各种来源的 EGFR 分子的真核表达质粒转染各种肿瘤细胞株(如肺癌细胞株 A431、乳腺癌细胞株 MCF7 等)、肿瘤血管内皮细胞等, 筛选稳定表达 EGFR 分子的转化株, 收获稳定转化株, 用副甲醛固定法等制备细胞疫苗。此外, 也可以用各种来源的 EGFR 构建的各种 EGFR 重组病毒疫苗感染各种肿瘤细胞株、肿瘤组织和肿瘤血管内皮细胞等, 用副甲醛固定法等制备细胞疫苗。

3. EGFR 稳定转化共生菌

EGFR 分子疫苗还有活体疫苗形式, 这就是 EGFR 稳定转化共生菌。

用各种来源的(包括自体的、异体的和基因直接进化的)EGFR 构建的原核生物重组表达质粒, 转化肠道共生菌, 如双歧杆菌等, 筛选其稳定表达菌株。这些稳定表达的肠道共生菌菌株能持续分泌外源 EGFR 分子, 诱导机体免疫反应, 是一种活体形式的 EGFR 疫苗, 它是 EGFR 分子疫苗的特例。

4. EGFR 分子疫苗的靶向纳米粒制剂

单纯的重组 EGFR 分子疫苗(包括重组 EGFR 基因疫苗、蛋白疫苗和病毒疫苗)依然有它的缺陷, 其特异性不够, 免疫原性仍有待提高。本发明利用纳米生物技术对 EGFR 分子疫苗进行靶向修饰, 制备 EGFR 分子疫苗的靶向纳米粒制剂。

这些靶向纳米粒以 EGFR 分子（包括 DNA 和蛋白质形式）为抗原靶分子，以生物性分子如脂质体、可降解性高分子生物材料如聚丙交酯-乙交酯 (poly DL-lactide-co-glycolide polymer, PLGA) 等为纳米材料，以 MIP-3、MIP-3 等基因以及甘露聚糖 (Mannan)、Flt3-L 等为修饰基团，以树突状细胞为靶细胞构建而成。

本发明的 EGFR 分子疫苗靶向纳米粒制剂有多种形式，主要包括：①甘露糖化纳米粒（包括甘露糖化腺病毒重组 EGFR 疫苗、甘露糖化重组 EGFR 蛋白疫苗、甘露糖化脂质体重组 EGFR 基因疫苗、甘露糖化重组 EGFR 蛋白疫苗等），②基因靶向纳米粒（基因靶向纳米脂质体重组 EGFR 疫苗、基因靶向纳米 PLGA 重组 EGFR 疫苗、基因靶向重组 EGFR 腺病毒疫苗等），它们同时表达 EGFR 和 MIP-3 等基因，③肿瘤新生血管靶向腺病毒重组 EGFR 疫苗（RGD 修饰的腺病毒重组 EGFR 疫苗）。

本发明的纳米粒粒径通常在 500nm 以下，可分为三种规格 200-500nm、100-200nm 和 50-100nm，以 50-100nm 粒径的纳米粒的效果为最佳，纳米粒峰值在 80nm 左右。

甘露糖化腺病毒重组 EGFR 疫苗的制备过程简要描述如下：用常规方法扩增 EGFR 重组腺病毒（I 代、II 代均可），层析或超离心法纯化重组腺病毒。将 70mg mannan (sigma) 溶于 5ml 0.1M 的磷酸盐缓冲液 (pH6.0) 中，终浓度 14mg/ml，加 45ml 0.01M 高碘酸钠溶液，在 4℃ 下混合氧化 60 分钟，加入 10% 乙二醇，在 4℃ 下孵育 30 分钟，即得 Ox-M (Oxidative Mannan, Ox-M) 混合物。将 Ox-M 混合物倒入用重碳酸盐缓冲液 (pH6.0-9.0) 平衡 Sephadex-G25 层析柱进行层析分离，Ox-M 即被洗入 2ml 的空容器。将纯化的 Ox-M 与 1×10^{14} 腺病毒颗粒混合，室温过夜，即获得所需 Ox-M-腺病毒。在 Ox-M-腺病毒中加入 1mg/ml 硼氢化钠，室温放置 3 小时即得 Red-M-腺病毒 (Reductive Mannan, Red-M)。Ox-M-腺病毒与 Red-M-腺病毒经超滤脱盐、浓缩后，过滤细菌，小管分装，-80℃ 低温保存。此经纯化的甘露糖化重组 EGFR 腺病毒即可作为疫苗进行免疫。

本发明认为腺病毒颗粒的粒径在 80nm 左右，是天然的纳米粒。对腺病毒颗粒进行修饰，使腺病毒纤维蛋白 (Adenoviral fiber protein) 表达 RGD 三肽，该三肽对肿瘤血管内皮细胞有特异靶向性。用 RGD 修饰的腺病毒重组 EGFR 疫苗，可看作是天然的靶向纳米 EGFR 分子疫苗。

本发明利用 AdEasy 系统构建 RGD 修饰腺病毒的重组 EGFR 疫苗，图 5 显示了 RGD 修饰的腺病毒重组 EGFR 疫苗的构建流程，其具体过程是：腺病毒基因组骨架质粒 pAdEasy-1 和 pAdEasy-2 经限制性内切酶 SpeI (Sp) 酶切后，用 T4 DNA 聚合酶补平 (filling, f) 末端，再用 PacI (P) 酶切，分别电泳回收 6211bp 和 3579bp 的片段，分别命名为 AdFiber I/Sp/f/P 和 AdFiber II/Sp/f/P，该片段包含了完整的腺病毒纤维蛋白基因。把 AdFiber I/Sp/f/P 和 AdFiber II/Sp/f/P 片段插入经 BamHI 酶

切—T4 DNA 聚合酶补平—PacI 酶切处理 (BamHI/filling /PacI-digested) 的 pShuttle 载体, 将所得的重组质粒分别命名为 pSh-AdFiber I 和 pSh-AdFiber II。pSh-AdFiber I 用 NheI 酶切—T4 DNA 聚合酶补平—KpnI 酶切处理 (NheI/filling/KpnI), 电泳回收 2090 bp 的片段 AdFiber I/Nh/f/K, 将该片段插入到经 SmaI/KpnI 双酶切的 pUC18 载体中, 所得的重组质粒命名为 pUC-AdFiber I; 而 pSh-AdFiber II 用 AvrII 酶切—T4 DNA 聚合酶补平—HindIII 酶切处理 (AvrII/filling/HindIII), 电泳回收 838 bp 的片段 AdFiber II/A/f/H, 将该片段插入到经 SmaI/HindIII 双酶切的 pUC18 载体中, 所得的重组质粒命名为 pUC-AdFiber II。设计一系列 PCR 引物以便以 pUC-AdFiber I 和 pUC-AdFiber II 为模板扩增腺病毒疣足 (Adenovirus knob, Ad-knob) 基因序列, 引物分别是: F1 (5'GAAAGCTAGC CCTGCAAACATCA 3')、R1 (5'ACTCCCGGGAGTTGTGTCTCCTGTTTCCTG 3')、F2 (5'ACTCCCGGGAGTGC ATACTCTATGTCA 3')、R2 (5'TATGGTAC CGGGAGGTGGTGA 3')、F3 (5'AACCTAGGGAGGTAAACCTAAGCACTG 3')、和 R3 (5'CTCAAGCTTTTGG AATTGTTTGA 3')。以引物 F1-R1、F2-R2、F3-R1 和 F2-R3 分别进行第一轮 PCR, 得到产物 PCR1、PCR2、PCR3 和 PCR4, 再以 F1-R2 和 F3-R3 为引物, 以第一次扩增产物 PCR1 与 PCR2、PCR3 与 PCR4 为模板进行第二轮 PCR 扩增, 得到 PCR 产物 PCR1—PCR2 (PCR I)、PCR3—PCR4 (PCR II), 将第二轮 PCR 扩增的 PCR I 和 PCR II 插入到经 EcoRV 酶切的 pBR322 载体中, 所得到的重组质粒命名为 pBR-PCR I 和 pBR-PCR II。把 RGD-4C 双螺旋寡聚核苷酸 (RGD-4C duplex):

5'TGTGACTGCCGCGGAGACTGTTTCTGC 3'

3'ACACTGACGGCGCCTCTGACAAAGACG 5'

插入到 SmaI 酶切的 pBR-PCR I and pBR-PCR II 载体中, 将所得到的重组质粒命名为 pBR-PCR/RGD I 和 pBR-PCR/RGD II, 并对重组结构进行测序确证。用 NheI/KpnI 双酶切 pBR-PCR/RGD I, 电泳回收 PCR/RGD I 片段, 然后插入到 NheI/KpnI 双酶切的 pUC-AdFiber I 载体中, 所得的重组质粒命名为 pUC-AdFiber-RGD I; 用 AvrII/HindIII 双酶切 pBR-PCR/RGD II, 电泳回收 PCR/RGD II 片段, 再插入到 AvrII/HindIII 双酶切的 pUC-AdFiber II 载体中, 将所得到的重组质粒命名为 pUC-AdFiber-RGD II。然后, 用 SpeI/PacI 双酶切 pUC-AdFiber-RGD I 和 pUC-AdFiber -RGD II 载体, 电泳回收 AdFiber-RGD I、AdFiber -RGD II 片段, 插入到 SpeI/PacI 双酶切的 pAdEasy-1、pAdEasy-2 载体中, 所得的重组质粒分别命名为 pAdEasy-RGD I、pAdEasy-RGD II。将经 PmeI 线性化的腺病毒穿梭质粒 pShuttle-hEGFR、pShuttle-mEGFR 和 pShuttle-chEGFR 分别与 pAdEasy-RGD I 和 pAdEasy-RGD II 共转化 E.coli BJ5183, 所得的重组质粒命名为腺病毒质粒 pAd-RGD-EGFR I 和 pAd-RGD-EGFR II, 腺病毒质粒 pAd-RGD-EGFR I 转染 293 细胞, 所得的重组腺病毒命名为 Ad-RGD-EGFR I, 腺病毒质粒 pAd-RGD-EGFR II

转染 293E4pIX 细胞, 所得的重组腺病毒命名为 Ad-RGD-EGFR II。经纯化的 Ad-RGD-EGFR I 和 Ad-RGD-EGFR II 可作为疫苗进行免疫, 对肿瘤血管内皮细胞具有特异的靶向性。

本发明发现纳米靶向的 EGFR 分子疫苗能比各种常规的 EGFR 分子疫苗更有效地提高 EGFR 的免疫原性, 诱导更强烈的抗肿瘤免疫反应。纳米靶向 EGFR 分子疫苗抗肿瘤作用原理示意图见图 6。

5. EGFR 分子疫苗与其它免疫反应促进因子等的协同应用

EGFR 分子疫苗的抗肿瘤作用效应可在其它免疫促进因子的协同作用下得到增强, 这些免疫促进因子包括各种细胞因子 (cytokine, 如 IL-2、TNF-、IFN-、GM-CSF 等)、各种趋化因子 (Chemokine, 如 MIP3、MIP3、IP10 等)、各种应急因子 (如 HSP70、HSP90 等)、各种免疫刺激因子 (如 B7 等)。各种免疫促进因子与 EGFR 分子疫苗的协同作用既可以通过基因融合在基因水平上实现, 也可以通过蛋白质联合应用在蛋白质水平上实现, 还可以通过共转染肿瘤细胞、树突状细胞和血管内皮细胞等在细胞水平上实现。

六、EGFR 分子疫苗的抗肿瘤作用效应

EGFR 分子疫苗的重要生物学功能就是以同种、异种或直接进化的 EGFR 分子为抗原分子所构建的各种新生物技术疫苗, 包括蛋白疫苗、基因疫苗、病毒疫苗和基因修饰疫苗等, 都具有抗肿瘤作用, 这些抗肿瘤作用表现为保护性抗肿瘤作用、治疗性抗肿瘤作用以及抗肿瘤转移作用。

为观察 EGFR 重组 DNA 疫苗的抗肿瘤效应, 给随即分组的小鼠 (每组 15 只) 分别肌肉注射 100 μ g 的 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p、mEe-p、c-p 或生理盐水, 每周一次, 连续四周。在第四次免疫结束后一周, 给每只免疫小鼠分别皮下接种 5×10^5 个 LL/2c Lewis 肺癌 (图 7 A 和 C) 或 MA782/5S 乳腺癌细胞 (图 7 B 和 D)。从图中可以看出, 用 mEe-p、c-p 或生理盐水免疫小鼠的肿瘤持续生长, 而 hEe-p 免疫小鼠的保护性免疫效应则非常明显, 并且 hEe-p 免疫小鼠的生存率也明显高于 mEe-p、c-p 或生理盐水免疫小鼠, hEe-p 免疫的小鼠生存期超过 5 个月, 其在荷瘤 150 天后, 接种 LL/2c Lewis 肺癌和 MA782/5S 乳腺癌的生存率分别有 60% 和 66%。研究还发现, 保护性免疫效应呈剂量依存效应, 150 μ g 剂量的免疫效果与 100 μ g 的免疫效果相当, 而 5—15 μ g 的剂量则几乎没有免疫效果。此外, hEe-p 免疫 EGFR 阴性肿瘤 (如 H22 肝癌和 MMT-06052 鼠乳腺癌) 的荷瘤小鼠没有保护性免疫效应。

除保护性免疫效应外, EGFR 重组 DNA 疫苗还具有治疗性免疫效应 (图 8)。同样地, 给随即分组的小鼠 (每组 15 只) 首先皮下接种 1×10^6 个 LL/2c Lewis 肺癌 (图 8 A 和 C) 或 MA782/5S 乳腺癌活细胞 (图 8 B 和 D), 5 天后分别肌肉注射 100 μ g 的 hEe-p、mEe-p、c-p 或生理盐水, 每周一次, 连续四周。从图中可以看出, 用 mEe-p、c-p 或生理盐水免疫小鼠的肿瘤持续生长, 而 hEe-p 免疫小鼠的治

疗性免疫效应则非常明显, 并且 hEe-p 免疫小鼠的生存率也明显高于 mEe-p、c-p 或生理盐水免疫小鼠, hEe-p 免疫的小鼠生存期超过 5 个月, 其在荷瘤 150 天后, 接种 LL/2c Lewis 肺癌和 MA782/5S 乳腺癌的生存率分别有 40% 和 53%。

重组 EGFR 蛋白疫苗也同样有保护性免疫效应和治疗性免疫效应 (图 9)。同前文所述, 选择 6-8 周龄雌性 C57BL/6 或 BALB/c 小鼠, 随机分组, 建立 LL/2c Lewis 肺癌、MA782/5S 乳腺癌和 C26 结肠癌荷瘤小鼠模型。荷瘤小鼠皮下注射重组蛋白疫苗 5-50 μ g 或佐剂氢氧化铝磷酸及生理盐水 100 μ l, 每周一次, 连续四周。重组 chEGFR 蛋白疫苗免疫小鼠产生了明显的抗肿瘤保护性免疫效应和治疗性免疫效应, 可抑制 LL/2c Lewis 肺癌和 MA782/5S 乳腺癌的生长, 延长荷瘤小鼠的生存时间, 但对 EGFR 阴性的 C26 肿瘤无明显的影响。而用重组 mEGFR 蛋白疫苗、铝佐剂免疫或注射生理盐水等对照组的荷瘤小鼠的肿瘤则生长迅速, 小鼠生存期明显缩短。疫苗组肿瘤体积 (t 检验) 和生存期 (log-rank 检验) 与各对照组比较均有显著差异 ($P < 0.05$)。图 9 就显示了重组 EGFR 蛋白疫苗对 MA782/5S 乳腺癌荷瘤小鼠的抗肿瘤作用效果。

转移是肿瘤进展以及放化疗失败的常见原因, 肿瘤细胞在血液、淋巴循环中的存在以及微小转移灶的形成是转移的关键。本发明继续观察到重组 EGFR 分子疫苗还有抗肿瘤转移作用 (图 10)。在尾静脉注射转移模型的治疗中发现, chEGFR 蛋白疫苗免疫的荷瘤小鼠较少发生肺部转移或程度远较对照组轻, 而重组 mEGFR 蛋白疫苗、铝佐剂免疫或注射生理盐水等对照组的荷瘤小鼠则 100% 出现肺部转移, 且转移病灶的个数明显为多; 甚至无法计数。图 10 显示了 LL/2c Lewis 肺癌荷瘤小鼠经重组 EGFR 蛋白疫苗免疫的抗肿瘤转移效应, 从图中可以看出, 各组治疗结束时, chEGFR 蛋白疫苗免疫小鼠的 LL/2c 移植瘤肺部转移灶数量和肺湿重均显著较对照组为轻。

此外, EGFR 分子疫苗还能抑制体外 (in vitro) 肿瘤细胞的生长及具有体内 (in vivo) 过继免疫抗肿瘤效应 (图 11)。EGFR 分子疫苗第四次免疫 7 天后, 收集小鼠血清, 用亲和层析法纯化血清中的免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig)。向 2×10^5 /ml 的处于对数生长期的 EGFR 阳性肿瘤细胞 (A549, LL/2c, MA782/5S) 和 EGFR 阴性肿瘤细胞 (H22 和 MMT-06052) 中加入不同浓度的 Ig (1-1000 mg/ml) 共培养 72 小时, 用台盼蓝染色法鉴定活细胞, 计算细胞生长抑制率。结果显示用人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠来源的 Ig 处理的 EGFR 阳性肿瘤细胞呈现明显的抑制生长状态, 而 EGFR 阴性的肿瘤细胞则没有影响 (图 11A)。作为对照, 用未免疫的正常小鼠来源的 Ig 与相应的肿瘤共培养, 无论对 EGFR 阳性肿瘤细胞还是 EGFR 阴性肿瘤细胞都没有抑制作用 (图 11B)。

这些纯化的来源于免疫小鼠的 Ig 还具有过继免疫作用效应。裸鼠皮下接种 1×10^5 - 1×10^6 个肿瘤细胞 1 天后, 按 10-300 mg/kg 静脉输注纯化的 Ig, 每周二次, 连续三周。结果显示过继输入的来源于人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠的

Ig 具有显著的肿瘤抑制作用。作为对照,把纯化的 Ig 与固定的 EGFR 阳性肿瘤细胞或 EGFR 阴性肿瘤细胞在 4℃ 下振荡 1 小时以吸附 Ig,共重复 4 次。结果发现来源于人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠的 Ig 的抗肿瘤效应由于被 EGFR 阳性肿瘤细胞(LL/2c, MA782/5S)预吸附而消除,但对 EGFR 阴性肿瘤细胞(H22)仍然有效(图 11C)。

除上述过表达 EGFR 的肺癌、乳腺癌外,EGFR 分子疫苗对其他各种过表达 EGFR 的实体瘤,包括卵巢癌、结肠癌、前列腺癌、胃癌、膀胱癌、头颈部鳞癌和胶质瘤等,也有较好的抗肿瘤作用效应。

七、EGFR 分子疫苗的抗肿瘤作用原理及生物安全性

现代免疫学认为,抗原或抗原表位与相应受体间的相互识别除特异性外,还存在一定程度的伸展性(plasticity)、是混杂性(promiscuity)或退变性(degeneracy),从而通过分子模拟(molecular mimicry)机制诱导针对自身抗原的免疫交叉反应,打破免疫耐受。

本发明发现 EGFR 分子作为一种免疫交叉抗原,能打破机体对自身 EGFR 分子的免疫耐受,诱导机体产生针对 EGFR 分子自身免疫样交叉反应,这些免疫反应包括针对 EGFR 分子的主动免疫反应(包括细胞免疫反应和体液免疫反应)和被动免疫反应(过继免疫反应)。

为了研究 EGFR 分子疫苗的抗肿瘤作用原理,我们首先对 EGFR 分子疫苗免疫小鼠进行体液免疫检测,包括应用流式细胞术、Western 印迹、免疫沉淀等验证小鼠/兔免疫血清中抗 EGFR 自身抗体的存在,应用 ELISA 检测小鼠/兔免疫血清中抗 EGFR 抗体的滴度及抗体类型,应用免疫组织化学法检测免疫小鼠肿瘤组织内的自身抗体,应用肿瘤细胞成集落实验、血清过继免疫实验检测自身抗体的功能等。

每只小鼠在免疫前及免疫后每周经鼠尾静脉采血或处死小鼠时取血,收集血清备用。Western Blot 检测表明重组 EGFR 分子疫苗免疫诱导的抗体可以特异识别相应的免疫原(重组 EGFR 蛋白或表达于肿瘤细胞上的 EGFR),但不能识别 EGFR 阴性细胞。同时,用流式细胞仪对所获得的抗体空间表位进行识别,也发现重组 EGFR 分子疫苗能诱导产生特异的抗体,可以识别表达于肿瘤细胞表面的 EGFR。ELISA 自身抗体测定结果显示,在初次免疫 2 周后重组 EGFR 分子疫苗免疫小鼠开始产生抗小鼠自身 EGFR 抗体,滴度可达 1:100 至 1:5000,以后逐渐升高,至第 4 周抗体滴度可达 1:10000 至 1:500000,到第 8 周抗体滴度仍能维持在 1:500 至 1:1000,而相应的对照组则检测不到明显的抗体产生。对所产生的抗体亚型作进一步检测,发现 EGFR 分子疫苗产生的抗体以 IgG 为主。图 12 显示了 EGFR 分子疫苗(重组蛋白疫苗和重组 DNA 疫苗)免疫小鼠所诱导产生的抗体类型,从图中可以看出,重组 EGFR 分子疫苗明显诱导产生了 IgG1、IgG2a 和 IgG2b 等抗体,但 IgM 和 IgA 并没有升高,并且这些抗体可被 CD4 抗体阻断,但不能被抗 CD8、抗

NK 或对照抗体所阻断,而其他对照组蛋白疫苗、佐剂和生理盐水组则不能检测到特异抗体。

EGFR 分子疫苗还诱导了细胞免疫。对 EGFR 分子疫苗免疫的小鼠进行的细胞免疫检测主要包括:应用 ^{51}Cr 释放法测定 CTL 活性,应用 ELISPOT 检测细胞因子水平(主要是免疫血清中 IFN- γ 和 IL-4 浓度),应用免疫细胞去除 (Depletion of immune cell subsets) 实验检测 T 细胞类型 (CD4+T 淋巴细胞、CD8+T 淋巴细胞或 NK 细胞等)。

重组 chEGFR 疫苗免疫小鼠后,取脾单个核细胞作 ELISPOT 检测,发现脾单个核细胞中存在大量抗原特异 B 细胞,而经重组 mEGFR 疫苗免疫后也能发现少量特异 B 细胞的存在,但空白组及佐剂或空载体组未能发现有统计意义的特异 B 细胞。重组 EGFR 分子疫苗免疫小鼠 3 周后,取免疫小鼠脾 T 细胞,并用健康脾单个核细胞为抗原呈递细胞加免疫原在体外再刺激扩增可能已活化 T 细胞。结果显示经重组 chEGFR 分子疫苗免疫后均含有较多量的 IFN- 及 IL-4 产生细胞,而重组 mEGFR 分子疫苗在体外再刺激源于 chEGFR 疫苗免疫小鼠的脾 T 细胞也含有较多的 IFN- 及 IL-4 产生细胞,明显多于同等条件下未体外刺激的 T 细胞。进一步以标准的 ^{51}Cr 释放法测定了重组 EGFR 分子疫苗免疫后脾 T 细胞对鼠、人等相关肿瘤细胞的特异杀伤活性。结果显示重组 chEGFR 分子疫苗免疫后的小鼠脾 T 细胞在 40:1 时对 EGFR 阳性表达 LL/2c、MA781/5S 肿瘤细胞的特异杀伤活性分别达 40.27%、42.83%,但对重组 mEGFR 分子疫苗免疫的小鼠脾 T 细胞对 MA781/5S 或 LLC 肿瘤细胞、以及 EGFR 阴性 C26 细胞未发现杀伤活性,同时这种作用可被相应抗 CD8 及 MHC-I 单克隆抗体阻断,而不能被抗 CD4 及 MHC-II 单克隆抗体阻断,其他对照组脾 T 细胞则未检测到有统计意义的杀伤活性。图 13 显示了 EGFR 重组 DNA 疫苗免疫小鼠所表现出的 CTL 效应,从图中可以看出:人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠来源的 T 细胞比其他对照组来源的 T 细胞对 EGFR 阳性的肿瘤细胞有着更高的细胞毒性,并且这种细胞毒性在体外可被抗 CD8 或抗 MHC I 单抗所阻断,但不能被抗 CD4 单抗所阻断,显示这种细胞杀伤活性来源于 MHC I 依赖的 CD8⁺T 细胞。另外,激活的脾细胞对 YAC-1 靶细胞没有显示出 NK 活性的增加。此外,过继输注人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠来源的 CD4 剔除 (CD8⁺) 或 CD8 剔除 (CD4⁺) T 细胞显示出对 EGFR 阳性肿瘤细胞的抗肿瘤作用,但对同源的 EGFR 阴性肿瘤细胞的抗肿瘤作用不明显,而相应的对照组也未显示出抗肿瘤作用效果。

本发明还对 EGFR 分子疫苗免疫小鼠的潜在长期毒性进行了观察。研究中没有观察到诸如小鼠体重减轻、皮毛皱缩、食欲减退、寿命缩短等明显的毒副作用。通过对免疫小鼠的肝、肺、脾、脑等器官的显微病理检查,没有发现病理变化,并且免疫荧光染色也未在主要脏器中发现自身抗体沉着(图 14)。

附图说明

图 1 同源分子疫苗的作用原理示意图

图 2 重组 EGFR 质粒图谱 A. 重组 EGFR 真核表达质粒图谱; B. 重组 EGFR 原核表达质粒图谱; C. 重组 EGFR 酵母表达质粒图谱; D. EGFR 重组腺病毒穿梭质粒图谱; E. EGFR 重组 Lentivirus 病毒前体质粒图谱

图 3 EGFR 重组蛋白疫苗的构建流程示意图

图 4 EGFR 重组病毒疫苗的构建流程示意图 A. EGFR 重组腺病毒疫苗的构建流程示意图; B. EGFR 重组 Lentivirus 病毒疫苗的构建流程示意图

图 5 RGD 修饰的腺病毒重组 EGFR 疫苗构建流程示意图

图 6 纳米靶向 EGFR 分子疫苗抗肿瘤作用原理示意图

图 7. 重组 EGFR DNA 疫苗的抗肿瘤保护性免疫效应 A. LL/2c Lewis 肺癌荷瘤的免疫小鼠的肿瘤体积变化; B. MA782/5S 乳腺癌荷瘤的免疫小鼠的肿瘤体积变化; C. LL/2c Lewis 肺癌荷瘤的免疫小鼠的生存率; D. MA782/5S 乳腺癌荷瘤的免疫小鼠的生存率。hEe-p, 人 EGFR 胞外段 DNA 疫苗; mEe-p, 鼠 EGFR 胞外段 DNA 疫苗; c-p, 空质粒对照; Saline, 生理盐水对照。

图 8. 重组 EGFR DNA 疫苗的抗肿瘤治疗性免疫效应 A. LL/2c Lewis 肺癌荷瘤的免疫小鼠的肿瘤体积变化; B. MA782/5S 乳腺癌荷瘤的免疫小鼠的肿瘤体积变化; C. LL/2c Lewis 肺癌荷瘤的免疫小鼠的生存率; D. MA782/5S 乳腺癌荷瘤的免疫小鼠的生存率。hEe-p, 人 EGFR 胞外段 DNA 疫苗; mEe-p, 鼠 EGFR 胞外段 DNA 疫苗; c-p, 空质粒对照。

图 9 重组 EGFR 蛋白疫苗的抗肿瘤免疫效应 A. 保护性免疫效应; B. 治疗性免疫效应; C. 荷瘤 (MA782/5S 乳腺癌) 小鼠生存曲线。edCER, 鸡 EGFR 胞外段重组蛋白疫苗; edMER, 鼠 EGFR 胞外段重组蛋白疫苗; Adj, 铝佐剂; NS, 生理盐水。

图 10 重组 EGFR 蛋白疫苗的抗肿瘤转移效应, A. LL/2c 肿瘤肺部转移灶数量; B. LL/2c 肿瘤转移后肺湿重。edCER, 鸡 EGFR 胞外段重组蛋白疫苗; edMER, 鼠 EGFR 胞外段重组蛋白疫苗; Adj, 铝佐剂; NS, 生理盐水。

图 11 EGFR 分子疫苗的体外 (in vitro) 抑制肿瘤细胞生长效应及体内 (in vivo) 过继免疫抗肿瘤效应 A. EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠来源的 Ig 对 EGFR 阳性肿瘤细胞 (A549, LL/2c, MA782/5S) 和 EGFR 阴性肿瘤细胞 (H22 and MMT-06052) 的生长抑制状况。B. 用未免疫的正常小鼠来源的 Ig 对肿瘤细胞的生长抑制状况。C. EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠来源的 Ig 的体内 (in vivo) 过继免疫抗肿瘤效应。hEe-p, 人 EGFR 胞外段 DNA 疫苗; mEe-p, 鼠 EGFR 胞外段 DNA 疫苗; c-p, 空质粒对照; Saline, 生理盐水对照。

图 12 EGFR 分子疫苗诱导产生的抗体类型 A. EGFR 重组 DNA 疫苗诱导产生的抗体类型; B. EGFR 重组蛋白疫苗诱导产生的抗体类型。hEe-p, 人 EGFR 胞

外段 DNA 疫苗; mEe-p, 鼠 EGFR 胞外段 DNA 疫苗; c-p, 空质粒对照; Saline, 生理盐水对照; edCER, 鸡 EGFR 胞外段重组蛋白疫苗; edMER, 鼠 EGFR 胞外段重组蛋白疫苗; Adj, 铝佐剂; NS, 生理盐水。

图 13 EGFR 重组 DNA 疫苗免疫小鼠的 CTL 效应 A. 人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 及其对照组免疫小鼠来源的 T 细胞对 LL/2c Lewis 肺癌细胞在不同 E:T 比例下的 ^{51}Cr 释放分析结果; B. 过继输注 2×10^7 个来源于人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠的 CD4^+ 剔除 (CD8^+) T 细胞对 EGFR 阳性的 LL/2c Lewis 肺癌细胞和 EGFR 阴性的 B16 黑色素瘤细胞的抗肿瘤作用; C. 过继输注 2×10^7 个来源于人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠的 CD8^+ 剔除 (CD4^+) T 细胞对 EGFR 阳性的 LL/2c Lewis 肺癌细胞和 EGFR 阴性的 B16 黑色素瘤细胞的的抗肿瘤作用; D. 过继输注 2×10^7 个来源于人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠的 CD4^+ 剔除 (CD8^+) T 细胞对 EGFR 阳性的 MA782/5S 乳腺癌细胞和 EGFR 阴性的 MethA 纤维肉瘤细胞的的抗肿瘤作用; E. 过继输注 2×10^7 个来源于人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠的 CD8^+ 剔除 (CD4^+) T 细胞对 EGFR 阳性的 MA782/5S 乳腺癌细胞和 EGFR 阴性的 MethA 纤维肉瘤细胞的抗肿瘤作用。□, 人 EGFR 重组 DNA 疫苗 hEe-p 免疫小鼠来源的 T 细胞过继免疫的荷瘤小鼠; ▨, 鼠 EGFR 重组 DNA 疫苗 mEe-p 免疫小鼠来源的 T 细胞过继免疫的荷瘤小鼠; ■, 非免疫小鼠来源的 T 细胞过继免疫的荷瘤小鼠。

图 14 肿瘤细胞及组织自身抗体的免疫荧光显微图谱 A. EGFR 分子疫苗免疫的 LL/2c Lewis 肺癌细胞的自身抗体沉着; B. EGFR 分子疫苗免疫的 MA782/5S 鼠乳腺癌细胞的自身抗体沉着; C. 未免疫的 LL/2c Lewis 肺癌细胞无自身抗体沉着; D. 未免疫的 MA782/5S 鼠乳腺癌细胞无自身抗体沉着; E. CD4^+ T 阻断的 EGFR 分子疫苗免疫的 LL/2c Lewis 肺癌细胞无自身抗体沉着; F. CD4^+ T 阻断的 EGFR 分子疫苗免疫的 MA782/5S 鼠乳腺癌细胞无自身抗体沉着; G. CD8^+ T 阻断的 EGFR 分子疫苗免疫的 LL/2c Lewis 肺癌细胞显示自身抗体沉着; H. CD8^+ T 阻断的 EGFR 分子疫苗免疫的 MA782/5S 鼠乳腺癌细胞显示自身抗体沉着; I. EGFR 分子疫苗免疫小鼠的肝脏无自身抗体沉着; J. EGFR 分子疫苗免疫小鼠的肾脏无自身抗体沉着; K. 未免疫小鼠的肝脏无自身抗体沉着; L. 未免疫小鼠的肾脏无自身抗体沉着。

具体实施方式

实施例 1 EGFR 重组 DNA 疫苗

依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列(分别对应于 SEQ ID NO 1-5,7-9,19)设计 PCR 引物(人的引物为: 5'GACCATG GAGGAAAAGAAAGTTTGC 3', 5'ACGAATTCTTAGGACGGGATCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为: 5'GACCATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'ACGAATTC TTAATAGATGGTATCTTTGGC 3'; 鸡的引物为: 5'GACCATGGAGGAGAAGAA

AGTTTGTC 3', 5'ACGAATTCTTAAGATGGAGTTTTGGAGCC 3'), 分别以人肺癌细胞株 A431、小鼠肺癌细胞株 LL2 和鸡胚的总 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增, 电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段(均为 1.9kb), 然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后, 用 NcoI 和 EcoRI 酶切, 收集 1.9kb 片段并纯化, 插入到用 NcoI 和 EcoRI 双酶切的 pORF-MCS (InvivoGen 公司) 载体, 筛选重组质粒。候选的重组质粒经限制性酶切分析及 PCR 扩增等双重鉴定, 命名为 pORF-hEGFR、pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR。

同样地, 设计针对于真核表达载体 pcDNA3.1(+) (Invitrogen 公司) 的 PCR 引物, 分别是: 人的引物 5'GAGCTAGCATGGAGGAAA AGAAAGTTTGC 3', 5'CACTCGAGTTAGGACGGGATCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为: 5'GAGCTAGCATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'CACTCGAG TTAATAGATGGTATCT TTGGC 3'; 鸡的引物为: 5'GAGCTAGCATGGAGGAGAA GAAAGTTTGTC 3', 5'CACTCG AGTTAAGATGGAGTTTTGGAGCC 3', 依前述 RNA 模板进行 RT-PCR 扩增。将纯化的 1.9kb 的 PCR 产物用 NheI 和 XhoI 双酶切, 插入到对应的双酶切载体 pcDNA3.1(+) 中, 筛选重组质粒, 将重组质粒分别命名为 pcDNA-hEGFR、pcDNA-mEGFR 和 pcDNA-chEGFR。

这些真核表达质粒 pORF-EGFR 或 pcDNA-EGFR 等转染入 CHO、NIH3T3、Vero 等细胞系, 观察并用 SDS-PAGE、ELISA、Western Blot 等技术检测其表达 EGFR 的情况和水平。用碱法抽提经过鉴定的重组 EGFR 分子表达质粒, 用超离心、超滤等方法去除大肠杆菌内毒素, 即得到纯净的质重组粒 DNA, 这些质粒 DNA 即可作为 DNA 疫苗进行免疫。

概括地讲, EGFR 重组 DNA 疫苗的构建过程是: 依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的各种生物来源(如人、小鼠、大鼠、鸡、鲐、果蝇等, 见 SEQ ID NO 1-14) 的关于 EGFR 分子的序列(包括基因、cDNA、mRNA 和氨基酸序列) 用常规方法设计引物或探针, 用 PCR、RT-PCR、杂交等技术, 从各种商品化的基因文库、cDNA 文库 (ClonTech, Strategene 公司等生产的各种基因文库、cDNA 文库) 或各种细胞系(如人肺癌细胞株 A431、鼠 Lewis 肺癌细胞株 LL2 等)、组织(如肺癌、乳腺癌组织、果蝇、鸡胚等) 等中克隆分离出不同种属生物来源的 EGFR 分子的胞外区段的 cDNA, 或进一步用基因直接进化技术筛选到的具有强免疫原性的 EGFR 分子。各种来源的 EGFR cDNA 的胞外段序列经测序鉴定后, 用分子克隆技术插入真核生物表达质粒(如 pcDNA3.1、pORF-mcs、pBLAST-mcs、pSecTag2 等), 筛选重组表达质粒, 经限制性酶切分析鉴定后转染入 CHO、NIH3T3、Vero 等细胞系, 观察并用 SDS-PAGE、ELISA、Western Blot 等技术检测其表达 EGFR 的情况和水平。用碱法抽提经过鉴定的重组 EGFR 分子表达质粒, 用超离心、超滤等方法去除大肠杆菌内毒素, 即得到纯净的质重组粒 DNA, 这些质粒 DNA 即可作为 DNA 疫苗进行免疫。

选择 6-8 周龄小鼠, 用常规方法建立各种荷瘤小鼠模型, 每只小鼠注射 100 g EGFR 重组表达质粒, 每周 1 次, 连续 4 周。观察荷瘤小鼠的生长情况及肿瘤的发展情况, 8 周后处死小鼠, 收集免疫小鼠血清及各种脏器, 用流式细胞术、ELISA、Western blot 等方法检测体液免疫反应, 用 Cr^{51} 、ELISpot 等检测细胞免疫反应, 用免疫组化方法检测免疫的毒、副作用。进一步提纯免疫小鼠血清, 按常规方法建立裸鼠的肿瘤模型, 进行过继免疫治疗, 观察肿瘤的生长情况。

实施例 2 EGFR 重组蛋白疫苗 (*E.coli* 表达)

同前文所述, 依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列 (分别对应于 SEQ ID NO 1-5, 7-9, 19) 设计 PCR 引物 (人的引物为: 5'GACCATGGAGGAAAAGAAAGTTTGC 3', 5'ACAGATCTAGGACGGGATCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为: 5'GACCATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'ACAGATCTATAGATGGTATCTTTGGC 3'; 鸡的引物为: 5'GACCATGGA GGA GAAGAAAGTTTGTGTC 3', 5'ACAGATCTAGATGGAGTTTTGGAGCC 3'), 分别以 pORF-hEGFR、pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR 等为模板进行 PCR 扩增, 电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段 (均为 1.9kb), 然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后, 用 NcoI 和 BglII 酶切, 收集 1.9kb 片段并纯化, 插入到用 NcoI 和 BglII 双酶切的 pQE60 (QIAGEN 公司) 载体, 筛选重组质粒。候选的重组质粒经限制性酶切分析及 PCR 扩增等双重鉴定, 命名为 pQE-hEGFR、pQE-mEGFR 和 pQE-chEGFR。

同样地, 可针对其他不同的原核表达载体 (如 pET32、pLLp、pSE420 等) 设计 PCR 引物, 以构建其他的重组原核表达质粒。

经限制性酶切分析等鉴定后的各重组原核表达质粒, 转化不同的大肠杆菌宿主 (如 *E.coli* TOP10F', *E.coli* BL21(DE3)pLys、*E.coli* M15、*E.coli* DH5、*E.coli* JM109 等), 观察并用 SDS-PAGE、ELISA、Western Blot 等技术检测其表达 EGFR 的情况和水平, 确定最适的大肠杆菌表达宿主菌株。用经确证的重组 EGFR 表达质粒转化最适大肠杆菌菌株, 建立稳定表达菌株和各级种子库。重组菌株大量摇瓶培养或发酵, 低温离心收集菌体, 菌体经 PBS 重悬后用超声法破碎细胞, 用离子交换层析、亲和层析等方法分离纯化重组 EGFR 蛋白, 此重组的 EGFR 蛋白质即可作为蛋白疫苗进行免疫。

选择 6-8 周龄小鼠, 用常规方法建立各种荷瘤小鼠模型, 每只小鼠注射 5-50 g EGFR 重组蛋白, 每周 1 次, 连续 4 周。观察荷瘤小鼠的生长情况及肿瘤的发展情况, 8 周后处死小鼠, 收集免疫小鼠血清及各种脏器, 用流式细胞术、ELISA、Western blot 等方法检测体液免疫反应, 用 Cr^{51} 、ELISpot 等检测细胞免疫反应, 用免疫组化方法检测免疫的毒、副作用。进一步提纯免疫小鼠血清, 按常规方法建立裸鼠的肿瘤模型, 进行过继免疫治疗, 观察肿瘤的生长情况。

实施例 3 EGFR 重组蛋白疫苗 (酵母 *Pichia pastoris* 表达)

同前文所述,依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列(分别对应于 SEQ ID NO 1-5,7-9,19)设计 PCR 引物(人的引物为: 5'ATACTCGAGAAAAGAGAGCTGGAGGAAAAGAAAG 3', 5' GCTCTAGAATGGCACAGGTGGCACA 3'; 小鼠的引物为: 5'ATGCTCGAGAAAA GAGAGTTGGAGGAAAAGAAAGTC 3', 5'AAGCGGCCCGCCATAGATGGTATCTTTG 3'; 鸡的引物为: 5'ATACTCGAGAAAAGAGAGGTGGAGGAGAAGAAAG 3', 5'CGTCTAGAAGATGGAGTTTTGGAG 3'),分别以 pORF-hEGFR、pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR 等为模板进行 PCR 扩增,电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段(均为 1.9kb),然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后,用 XhoI 和 XbaI(对小鼠的克隆为 XhoI 和 NotI)酶切,收集 1.9kb 片段并纯化,插入到用 XhoI 和 XbaI 双酶切(对小鼠的克隆为 XhoI 和 NotI 双酶切)的 pPICZ A (Invitrogen 公司)载体,转化 E.coli 筛选重组质粒。候选的重组质粒经限制性酶切分析及 PCR 扩增等双重鉴定,命名为酵母表达质粒 pYE-hEGFR、pYE-mEGFR 和 pYE-chEGFR。这些酵母表达质粒经 PmeI 酶切线性化后,用电穿孔法转化酵母菌株 X33 或 GS115,用 Zeocin 抗性筛选稳定转化子,在 MMH (Minimal Methanol with histidine, MMH)和 MDH (Minimal Dextrose with histidine, MDH)琼脂平板上鉴定和挑选 Mut⁺转化子。挑选 6-10 个 Mut⁺转化子进行小规模表达,用 SDS-PAGE、Western Blot、ELISA 等方法对所表达的重组蛋白进行鉴定。选择其中表达效率最高的 Mut⁺转化子做大规模表达,建立各级酵母表达种子库。重组菌株大量摇瓶培养或发酵,低温离心收集菌体,菌体经 PBS 重悬后用超声法破碎细胞,用离子交换层析、亲和层析等方法分离纯化重组 EGFR 蛋白,此重组的 EGFR 蛋白质即可作为蛋白疫苗进行免疫。

同样地,也可用其他的酵母表达系统构建类似的酵母重组表达质粒。

选择 6-8 周龄小鼠,用常规方法建立各种荷瘤小鼠模型,每只小鼠注射 5-50 g EGFR 重组蛋白,每周 1 次,连续 4 周。观察荷瘤小鼠的生长情况及肿瘤的发展情况,8 周后处死小鼠,收集免疫小鼠血清及各种脏器,用流式细胞术、ELISA、Western blot 等方法检测体液免疫反应,用 Cr⁵¹、ELISpot 等检测细胞免疫反应,用免疫组化方法检测免疫的毒、副作用。进一步提纯免疫小鼠血清,按常规方法建立裸鼠的肿瘤模型,进行过继免疫治疗,观察肿瘤的生长情况。

实施例 4 EGFR 重组腺病毒疫苗

同前文所述,依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列(分别对应于 SEQ ID NO 1-5,7-9,19)设计 PCR 引物(人的引物为: 5'GAAGATCTATGGAGGAAAAGAAAGTTTGC 3', 5'ACGATATCTTAAGGACGGGATCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为: 5'GAAGATCTATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'ACGATATCTTAATAGATGGTATCTTTGGC 3'; 鸡的引物为: 5'GAAGATCTATGGAGGAGAAGAAAGTTTGC 3', 5'ACGATATCTTA

AGATGGAGTTTTGGAGCC 3'), 分别以 pORF-hEGFR、pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR 等为模板进行 PCR 扩增,电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段(均为 1.9kb),然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后,用 BglII 和 EcoRV 酶切,收集 1.9kb 片段并纯化,插入到用 BglII 和 EcoRV 双酶切的 pShuttle-CMV (Quantum Biotechnologies 公司)载体,筛选重组质粒。候选的重组质粒经限制性酶切分析及 PCR 扩增等双重鉴定,命名为腺病毒穿梭表达质粒 pShuttle-hEGFR、pShuttle-mEGFR 和 pShuttle-chEGFR (图 2D)。分别将经 PmeI 酶切的腺病毒穿梭表达载体 pShuttle-EGFR 与包含腺病毒基因组的骨架载体 pAdEasy-1 或 pAdEasy-2 共转化 E.coli BJ5183,得到重组腺病毒载体质粒 pAd-hEGFR、pAd-mEGFR 和 pAd-chEGFR。这些重组腺病毒载体质粒经 PacI 酶切后,用磷酸钙-DNA 共沉淀法转染入腺病毒包装细胞株 293 细胞中,得到相应的重组腺病毒 Ad-hEGFR、Ad-mEGFR 和 Ad-chEGFR。用 PCR、Western blot 和酶切分析确证 EGFR 基因构建入重组腺病毒载体中并能在真核细胞中得到正确有效的表达,用超离心法大量制备重组腺病毒 Ad-EGFR,用上层琼脂法、TCID₅₀ 等法测定每批次的重组腺病毒的滴度(pfu)。利用 293 细胞大量扩增经确证的 EGFR 重组腺病毒疫苗,用超离心、超滤等技术分离、纯化重组腺病毒,此经纯化的 EGFR 重组腺病毒即可作为疫苗进行免疫。

同前文所述,选择 6-8 周龄小鼠,用常规方法建立各种荷瘤小鼠模型,每只小鼠注射 1×10^9 PFU 的 EGFR 重组腺病毒,每周 1 次,连续 4 周。观察荷瘤小鼠的生长情况及肿瘤的发展情况,8 周后处死小鼠,收集免疫小鼠血清及各种脏器,用流式细胞术、ELISA、Western blot 等方法检测体液免疫反应,用 Cr51、ELISpot 等检测细胞免疫反应,用免疫组化方法检测免疫的毒、副作用。进一步提纯免疫小鼠血清,按常规方法建立裸鼠的肿瘤模型,进行过继免疫治疗,观察肿瘤的生长情况。

实施例 5 EGFR 重组 Lentivirus 病毒疫苗

如前文所述,本发明利用 ViraPower™ Lentiviral Gateway® Expression Kit (Invitrogen 公司)构建 EGFR 重组 Lentivirus 病毒,其具体构建过程是:依据 GenBank 等各公开的数据库所收藏的人、小鼠、鸡、的 EGFR 分子的 cDNA 序列(分别对应于 SEQ ID NO 1-5,7-9,19)设计 PCR 引物(人的引物为:5'-GACCATGGA GGAAAAGAAAGTTTGC 3', 5'-ACGATATCAGGACGGGA TCTTAGGCCCA 3'; 小鼠的引物为:5'-GACCATGGAGGAAAAGAAAGTCTGC 3', 5'-ACGATATCA TAGATGGTATCTTTGGC 3'; 鸡的引物为:5'-GACCATGGAGGAGAAGAAAGT TTGTC 3', 5'-ACGATATCAGATGGAGTTTTGGAGCC 3'),分别以 pORF-hEGFR、pORF-mEGFR 和 pORF-chEGFR 等为模板进行 PCR 扩增,电泳收集纯化扩增的 EGFR 片段(均为 1.9kb),然后进行 PCR 产物亚克隆。把 PCR 亚克隆测序确证后,用 NcoI 和 EcoRV 酶切,收集 1.9kb 片段并纯化,插入到用 NcoI 和 EcoRV 双酶切

的 pENTR11 (Invitrogen 公司) 载体中, 筛选重组质粒, 命名为 pENTR-hEGFR、pENTR-mEGFR 和 pENTR-chEGFR (图 2E)。分别将这些载体 pENTR-EGFR 与包含 Lentivirus 病毒基因组的骨架载体 pLenti6/V5-DEST 共转化 E.coli DH5⁺, 得到重组 Lentivirus 病毒载体质粒 pLenti-hEGFR、pLenti-mEGFR 和 pLenti-chEGFR (图 2E)。这些重组 Lentivirus 病毒载体质粒与包装混合物一起 (ViraPower™ Packaging Mix) 用磷酸钙-DNA 共沉淀法转染入 Lentivirus 病毒包装细胞株 293FT 细胞中, 得到相应的重组 Lentivirus 病毒 Lenti-hEGFR、Lenti-mEGFR 和 Lenti-chEGFR。用 PCR、Western blot 等确证 EGFR 基因构建入重组 Lentivirus 病毒载体中并能在真核细胞中得到正确有效的表达。利用 293FT 细胞大量扩增经确证的 EGFR 重组 Lentivirus 病毒疫苗, 用超离心、超滤等技术分离、纯化重组 Lentivirus 病毒, 此经纯化的 EGFR 重组 Lentivirus 病毒即可作为疫苗进行免疫。

实施例 6 甘露糖化腺病毒重组 EGFR 疫苗

如前文所述, 用常规方法扩增 EGFR 重组腺病毒 (I 代、II 代均可), 层析或超离心法纯化重组腺病毒。将 70mg mannan (sigma) 溶于 5ml 0.1M 的磷酸盐缓冲液 (pH6.0) 中, 终浓度 14mg/ml, 加 45ml 0.01M 高碘酸钠溶液, 在 4℃ 下混合氧化 60 分钟, 加入 10% 乙二醇, 在 4℃ 下孵育 30 分钟, 即得 Ox-M (Oxidative Mannan) 混合物。将 Ox-M 混合物倒入用重碳酸盐缓冲液 (pH6.0-9.0) 平衡 Sephadex-G25 层析柱进行层析分离, Ox-M 即被洗入 2ml 的空容器。将纯化的 Ox-M 与 1×10^{14} 腺病毒颗粒混合, 室温过夜, 即获得所需 Ox-M-腺病毒。在 Ox-M-腺病毒中加入 1mg/ml 硼氢化钠, 室温放置 3 小时即得 Red-M-腺病毒。Ox-M-腺病毒与 Red-M-腺病毒经超滤脱盐、浓缩后, 过滤细菌, 小管分装, -80℃ 低温保存。此经纯化的甘露糖化重组 EGFR 腺病毒即可作为疫苗进行免疫。

同前文所述, 选择 6-8 周龄小鼠, 用常规方法建立各种荷瘤小鼠模型, 每只小鼠注射 1×10^{10} PFU 的重组 EGFR 甘露糖化腺病毒疫苗, 每周 1 次, 连续 4 周。观察荷瘤小鼠的生长情况及肿瘤的发展情况, 8 周后处死小鼠, 收集免疫小鼠血清及各种脏器, 用流式细胞术、ELISA、Western blot 等方法检测体液免疫反应, 用 Cr⁵¹、ELISpot 等检测细胞免疫反应, 用免疫组化方法检测免疫的毒、副作用。进一步提纯免疫小鼠血清, 按常规方法建立裸鼠的肿瘤模型, 进行过继免疫治疗, 观察肿瘤的生长情况。

实施例 7 RGD 修饰的腺病毒重组 EGFR 疫苗的构建

如前文所述, 本发明利用 AdEasy 系统构建 RGD 修饰腺病毒的重组 EGFR 疫苗, 其具体过程是: 腺病毒基因组骨架质粒 pAdEasy-1 和 pAdEasy-2 经限制性内切酶 SpeI (Sp) 酶切后, 用 T4 DNA 聚合酶补平 (filling, f) 末端, 再用 PacI (P) 酶切, 分别电泳回收 6211bp 和 3579bp 的片段, 分别命名为 AdFiber I/Sp/f/P 和 AdFiber II/Sp/f/P, 该片段包含了完整的腺病毒纤毛 (Adenovirus fiber) 基因。把 AdFiber I/Sp/f/P 和 AdFiber II/Sp/f/P 片段插入经 BamHI 酶切-T4 DNA 聚合酶补

平—PacI 酶切处理 (BamHI/filling/PacI-digested) 的 pShuttle 载体, 将所得的重组质粒分别命名为 pSh-AdFiber I 和 pSh-AdFiber II。pSh-AdFiber I 用 NheI 酶切—T4 DNA 聚合酶补平—KpnI 酶切处理 (NheI/filling/KpnI), 电泳回收 2090 bp 的片段 AdFiber I/Nh/f/K, 将该片段插入到经 SmaI/KpnI 双酶切的 pUC18 载体中, 所得的重组质粒命名为 pUC-AdFiber I; 而 pSh-AdFiber II 用 AvrII 酶切—T4 DNA 聚合酶补平—HindIII 酶切处理 (AvrII/filling/HindIII), 电泳回收 838 bp 的片段 AdFiber II/A/f/H, 将该片段插入到经 SmaI/HindIII 双酶切的 pUC18 载体中, 所得的重组质粒命名为 pUC-AdFiber II。设计一系列 PCR 引物以便以 pUC-AdFiber I 和 pUC-AdFiber II 为模板扩增腺病毒疣足 (Adenovirus knob, Ad-knob) 基因序列, 引物分别是: F1 (5'GAAAGCTAGC CCTGCAAACATCA 3'), R1 (5'ACTCCC GGGAGTTGTGTCTCCTGTTTCCTG 3'), F2 (5'ACTCCCGGGAGTGCATACTC TATGTCA 3'), R2 (5'TATGGTAC CGGGAGGTGGTGA 3'), F3 (5'AACCTAG GGAGGTTAACCTAAGCACTG 3'), 和 R3 (5'CTCAAGCTTTTTGGAATTGT TTGA 3')。以引物 F1-R1、F2-R2、F3-R1 和 F2-R3 分别进行第一轮 PCR, 得到产物 PCR1、PCR2、PCR3 和 PCR4, 再以 F1-R2 和 F3-R3 为引物, 以第一次扩增产物 PCR1 与 PCR2、PCR3 与 PCR4 为模板进行第二轮 PCR 扩增, 得到 PCR 产物 PCR1—PCR2 (PCR I)、PCR3—PCR4 (PCR II), 将第二轮 PCR 扩增的 PCR I 和 PCR II 插入到经 EcoRV 酶切的 pBR322 载体中, 所得到的重组质粒命名为 pBR-PCR I 和 pBR-PCR II。把 RGD-4C 双螺旋寡聚核苷酸 (RGD-4C duplex):

5'TGTGACTGCCGCGGAGACTGTTTCTGC 3'

3'ACACTGACGGCGCCTCTGACAAAGACG 5'

插入到 SmaI 酶切的 pBR-PCR I 和 pBR-PCR II 载体中, 将所得到的重组质粒命名为 pBR-PCR/RGD I 和 pBR-PCR/RGD II, 并对重组结构进行测序确证。用 NheI/KpnI 双酶切 pBR-PCR/RGD I, 电泳回收 PCR/RGD I 片段, 然后插入到 NheI/KpnI 双酶切的 pUC-AdFiber I 载体中, 所得的重组质粒命名为 pUC-AdFiber-RGD I; 用 AvrII/HindIII 双酶切 pBR-PCR/RGD II, 电泳回收 PCR/RGD II 片段, 再插入到 AvrII/HindIII 双酶切的 pUC-AdFiber II 载体中, 将所得到的重组质粒命名为 pUC-AdFiber-RGD II。然后, 用 SpeI/PacI 双酶切 pUC-AdFiber-RGD I 和 pUC-AdFiber-RGD II 载体, 电泳回收 AdFiber-RGD I、AdFiber-RGD II 片段, 插入到 SpeI/PacI 双酶切的 pAdEasy-1、pAdEasy-2 载体中, 所得的重组质粒分别命名为 pAdEasy-RGD I、pAdEasy-RGD II。将经 PmeI 线性化的腺病毒穿梭质粒 pShuttle-hEGFR、pShuttle-mEGFR 和 pShuttle-chEGFR 分别与 pAdEasy-RGD I 和 pAdEasy-RGD II 共转化 E.coli BJ5183, 所得的重组质粒命名为腺病毒质粒 pAd-RGD-EGFR I 和 pAd-RGD-EGFR II, 腺病毒质粒 pAd-RGD-EGFR I 转染 293 细胞, 所得的重组腺病毒命名为 Ad-RGD-EGFR I, 腺病毒质粒 pAd-RGD-EGFR II 转染 293E4pIX 细胞, 所得的重组腺病毒命名为 Ad-RGD-EGFR II。

经纯化的 Ad-RGD-EGFR I 和 Ad-RGD-EGFR II 可作为疫苗进行免疫, 对肿瘤血管内皮细胞具有特异的靶向性。

实施例 8 重组 EGFR 分子疫苗的药效学观察

药效学研究是观察和验证重组 EGFR 分子疫苗的抗肿瘤作用的重要指标。在本发明中, 药效学观察的实验包括: 普通荷瘤小鼠 (含保护性免疫实验、治疗性免疫实验、肿瘤转移模型实验)、兔免疫试验、猴免疫试验、裸鼠过继免疫实验、剂量依存实验、体外细胞实验等。这里主要叙述以肺癌为模型的普通荷瘤小鼠实验, 其它可类比。

1. 荷瘤小鼠保护性免疫实验 随机分组的 6-8 周龄 C57BL/6 小鼠双侧后肢股四头肌肌肉交叉注射 EGFR 分子疫苗, 每周一次, 连续四周。第 5 周各组小鼠均右腋皮下接种 LL/2 肿瘤细胞 1×10^6 。分别在首次免疫第 0、1、3、5 周经鼠尾静脉或处死小鼠时采血。离心后 (5000 转/分, 3 分钟) 收集血清, -20°C 保存备用。

2. 荷瘤小鼠治疗性免疫实验 随机分组的 6-8 周龄 C57BL/6 小鼠均右腋皮下接种 LL/2 肿瘤细胞 1×10^6 。接种后第 4 天 (可触及肿瘤), 随机分组, 小鼠后肢肌肉交叉注射。每周一次, 连续四周。各组分别在首次免疫第 0、2、4、6 周经鼠尾静脉或处死小鼠时采血。离心后 (5000 转/分, 3 分钟) 收集血清, -20°C 保存备用。观察并记录肿瘤重量、体积及生存曲线。

3. 荷瘤小鼠转移模型实验 选 6-8 周龄 C57BL/6 雌性小鼠, 随机分组, 小鼠后肢肌肉交叉注射疫苗及对照组。每周一次, 连续四周。2 周后, 取对数期生长的 LL/2 细胞, 按 2×10^5 /只接种于 C57BL/6 小鼠右后腿肌肉内, 继续上述疫苗注射, 4 周后断颈处死小鼠, 取肺称重, 检查并计数肺部转移灶后, 用 10% 中性缓冲福尔马林固定。

权利要求

1. 一种制备疫苗的方法，该方法包括：
 - 1) 分析特定病原体的特异抗原；
 - 2) 获得编码特异抗原的多核苷酸序列；
 - 3) 获得与该多核苷酸序列有足够差异的多核苷酸序列；
 - 4) 利用步骤 3) 中所得的多核苷酸序列制备疫苗。
2. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述病原体选自细菌、病毒、真菌和原生动物。
3. 如权利要求 1 所述的方法，其中步骤 1) 所述的多核苷酸序列与步骤 3) 所述的多核苷酸序列的差异，以它们所编码的多肽序列而言，同源性的为 30%—95%。
4. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述疫苗的形式选自重组蛋白疫苗、重组基因疫苗、重组病毒疫苗、基因修饰疫苗及稳定转化共生菌。
5. 一种制备肿瘤疫苗的方法，该方法包括：
 - 1) 分析动物体内的肿瘤细胞的特异抗原；
 - 2) 获得编码特异抗原的多核苷酸序列；
 - 3) 获得与该多核苷酸序列有足够差异的多核苷酸序列；
 - 4) 利用步骤 3) 中所得的多核苷酸序列制备疫苗。
6. 如权利要求 5 所述的方法，其中所述肿瘤细胞发生在动物体内。
7. 如权利要求 5 所述的方法，其中所述肿瘤细胞来源于动物体。
8. 如权利要求 6 或 7 所述的方法，其中所述动物体包括人体。
9. 如权利要求 5 所述的方法，其中步骤 1) 所述的多核苷酸序列与步骤 3) 所述的多核苷酸序列的差异，以它们所编码的多肽序列而言，同源性的为 30%—95%。
10. 如权利要求 5 所述的方法，其中所述疫苗的形式选自重组蛋白疫苗、重组基因疫苗、重组病毒疫苗、基因修饰疫苗及稳定转化共生菌。
11. 一种制备 EGFR 疫苗的方法，该方法包括：
 - 1) 分析动物体内的肿瘤细胞的 EGFR 抗原；

- 2) 获得编码特异抗原的多核苷酸序列;
- 3) 获得与该多核苷酸序列有足够差异的多核苷酸序列;
- 4) 利用步骤 3) 中所得的多核苷酸序列制备疫苗。

12. 如权利要求 11 所述的方法, 其中所述肿瘤细胞发生在动物体内。

13. 如权利要求 11 所述的方法, 其中所述肿瘤细胞来源于动物体。

14. 如权利要求 11 所述的方法, 其中步骤 1) 所述的多核苷酸序列与步骤 3) 所述的多核苷酸序列的差异, 以它们所编码的多肽序列而言, 同源性的为 30%—95%。

15. 如权利要求 11 所述的方法, 其中所述疫苗的形式选自选自重组蛋白疫苗、重组基因疫苗、重组病毒疫苗、基因修饰疫苗及稳定转化共生菌。

17. 一种核酸疫苗, 其中含有的多核苷酸序列所编码的多肽与病原体中特定抗原的多核苷酸序列所编码的多肽的同源性为 30-95%。

18. 一种表皮生长因子受体 (EGFR) 核酸疫苗, 其中含有的多核苷酸序列编码的表皮生长因子受体与生物体内的该表皮生长因子受体中的氨基酸序列的同源性为 30-95%。

19. 一种表皮生长因子受体 (EGFR) 核酸疫苗, 其中含有的多核苷酸序列编码的表皮生长因子受体与人体内的该表皮生长因子受体中的氨基酸序列的同源性为 30-95%。

20. 一种制备用于治疗人体肿瘤的 EGFR 疫苗的方法, 该方法包括:

- 1) 从异种生物获得编码 EGFR 的多核苷酸序列; 和
- 2) 利用步骤 1) 中所得的多核苷酸序列制备疫苗。

21. 如权利要求 20 所述的方法, 其中所述异种生物是除人之外的其他生物, 如小鼠、大鼠、鸡、鲐、果蝇等。

22. 如权利要求 20 所述的方法, 其中所述从异种生物获得编码 EGFR 的多核苷酸序列选自 SEQ.ID.No.13, SEQ.ID.No.15, SEQ.ID.No.17, SEQ.ID.No.19, SEQ.ID.No.21, SEQ.ID.No.23, SEQ.ID.No.24 和 SEQ.ID.No.26。

23. 如权利要求 20 所述的方法, 其中所述疫苗的形式选自选自重组蛋白疫苗、重组基因疫苗、重组病毒疫苗、基因修饰疫苗及稳定转化共生菌。

24. 如权利要求 20 的方法, 其中人体肿瘤选自过量表达 EGFR 分子的肺癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌、胃癌、膀胱癌、头颈部鳞癌和胶质瘤等。

25. 一种制备用于治疗人体肿瘤的 EGFR 疫苗的方法, 该方法包括:

- 1) 修饰人 EGFR 的多核苷酸序列; 和
- 2) 从步骤 1) 中所得的多核苷酸序列中选择修饰后的多核苷酸序列制备疫苗。

26. 如权利要求 25 的方法, 其中所述人 EGFR 的多核苷酸序列选自 SEQ. ID. No. 1, SEQ. ID. No. 3, SEQ. ID. No. 5, SEQ. ID. No. 7, SEQ. ID. No. 9 和 SEQ. ID. No. 11。

27. 如权利要求 25 的方法, 其中所述修饰方法选自易错 PCR、改组、寡核苷酸介导的诱变、装配 PCR、有性 PCR 诱变、体内诱变、盒式诱变、递归集团诱变、指数集团诱变、位点特异性诱变、基因再装配、GSSM 及其任意组合。

28. 如权利要求 25 所述的方法, 其中所述疫苗的形式选自选自重组蛋白疫苗、重组基因疫苗、重组病毒疫苗、基因修饰疫苗及稳定转化共生菌。

29. 如权利要求 25 的方法, 其中人体肿瘤选自过量表达 EGFR 分子的肺癌、乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、前列腺癌、胃癌、膀胱癌、头颈部鳞癌和胶质瘤等。

30. 一种表皮生长因子受体多肽疫苗, 其中含有的表皮生长因子受体多肽与人体内的该表皮生长因子受体中的氨基酸序列的同源性为 30-95%。

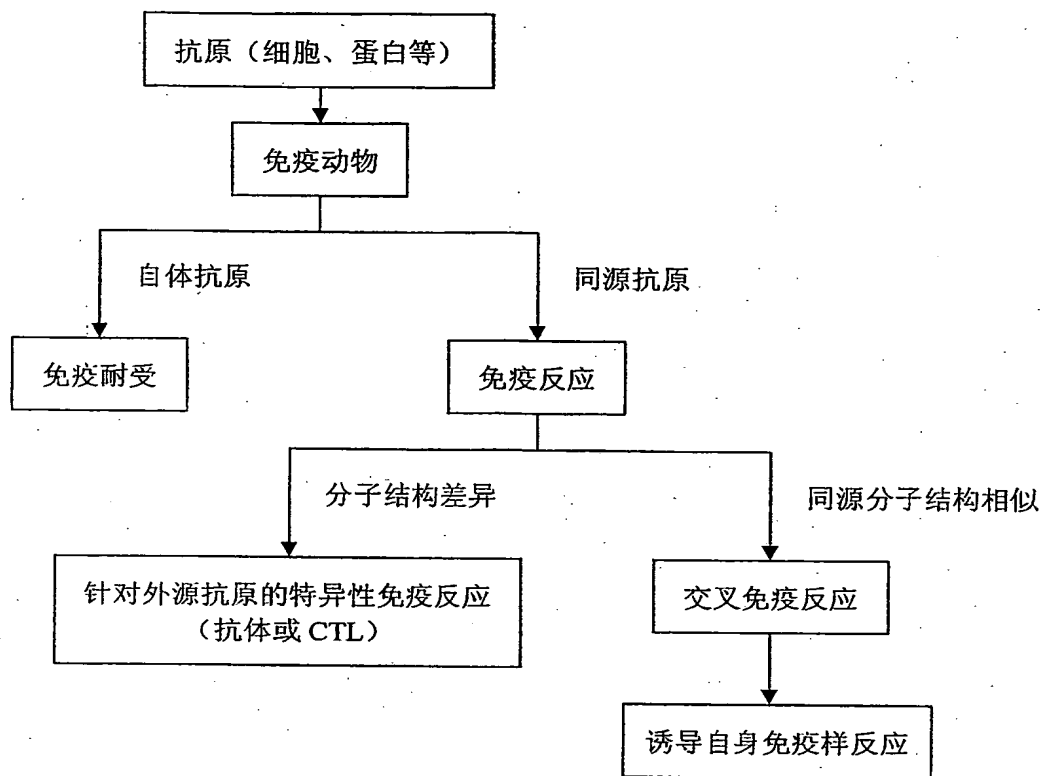
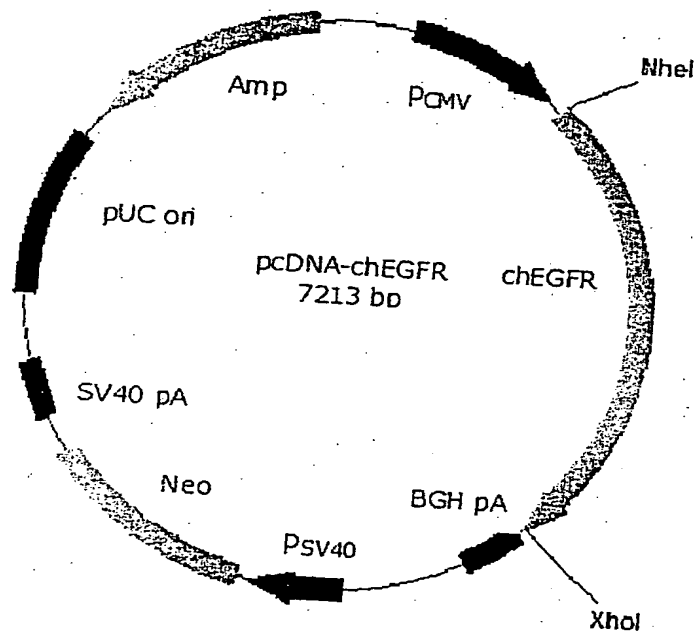
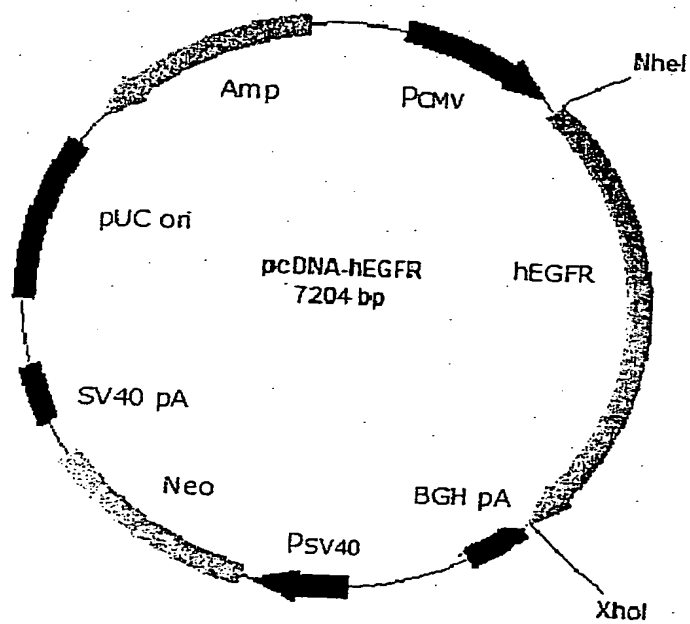


图 1

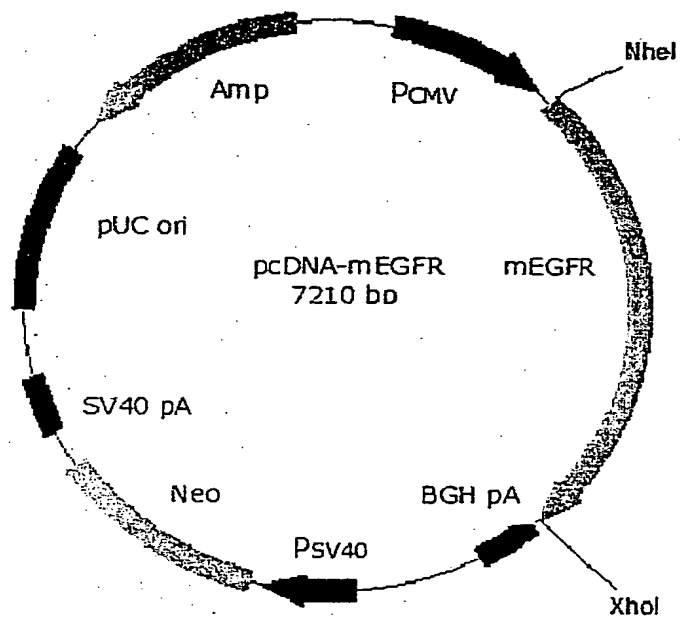


A1



A2

图 2



A3

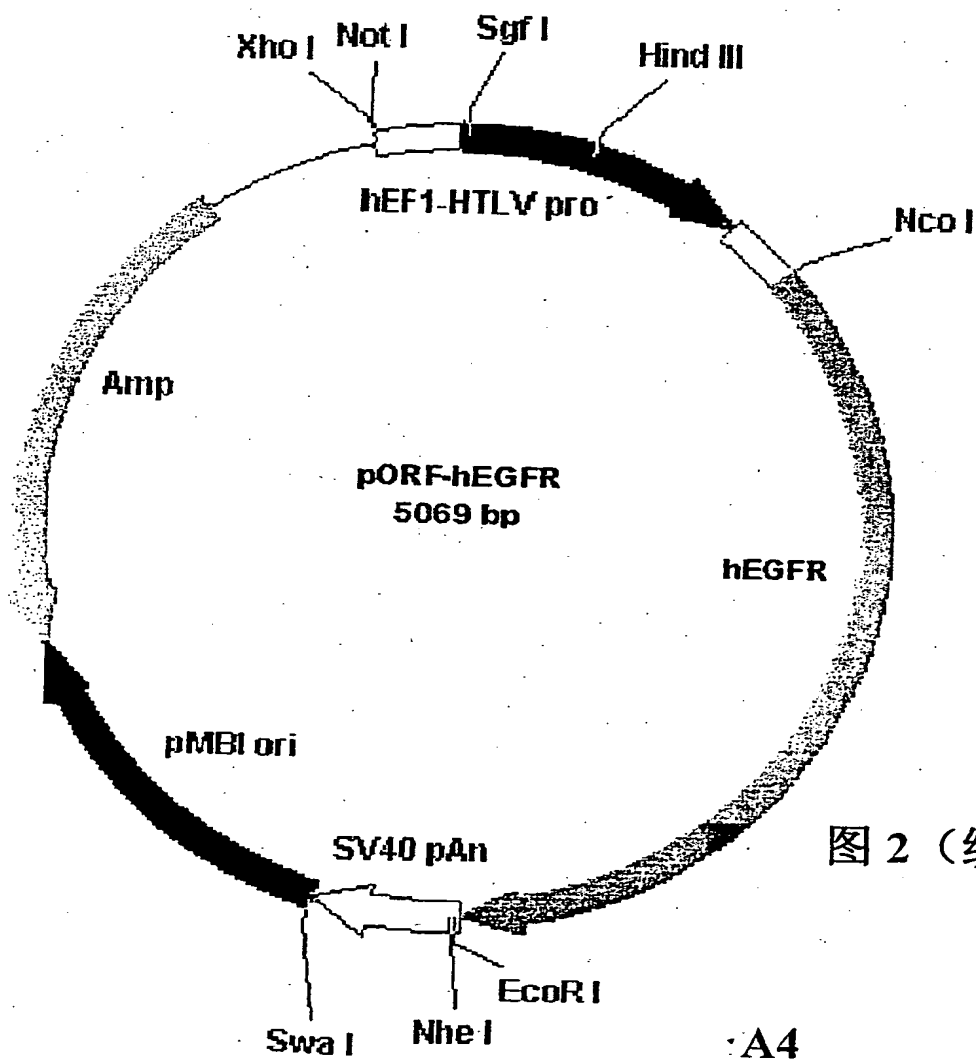
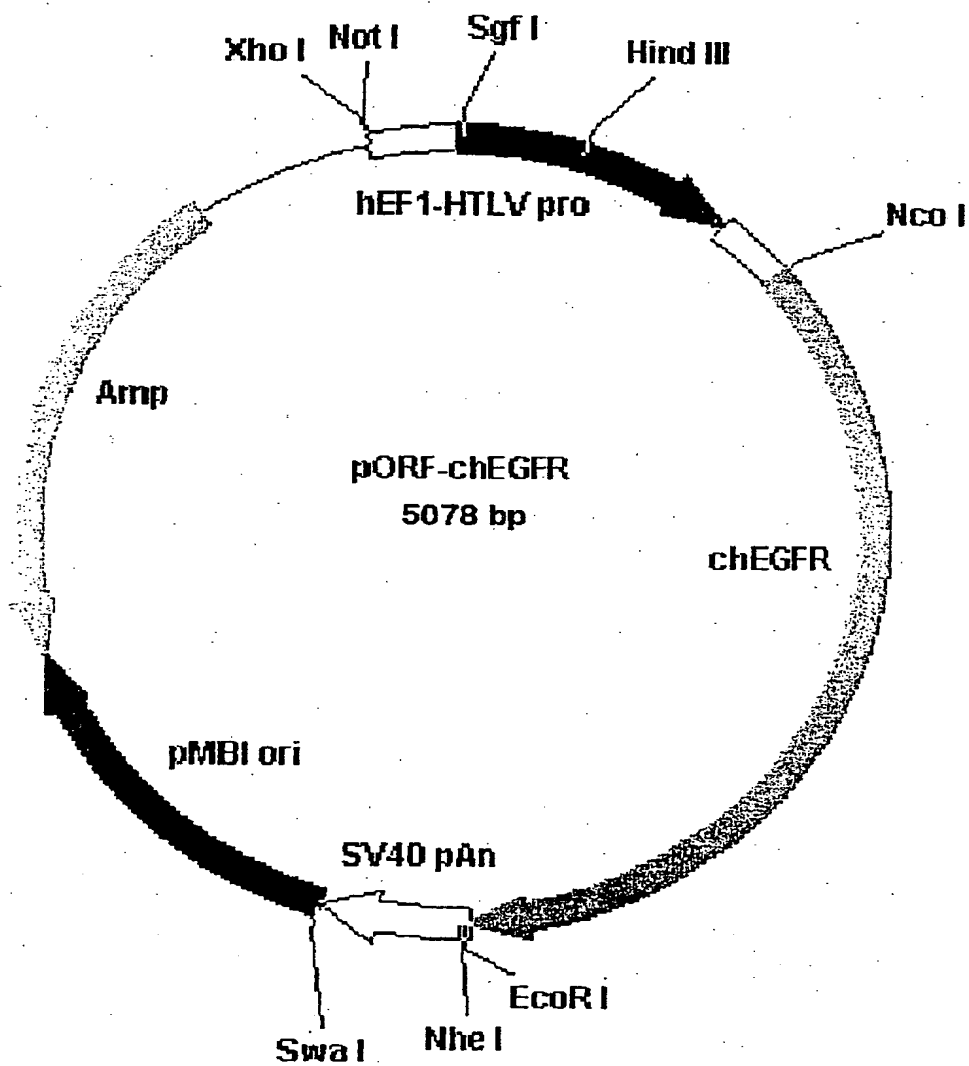


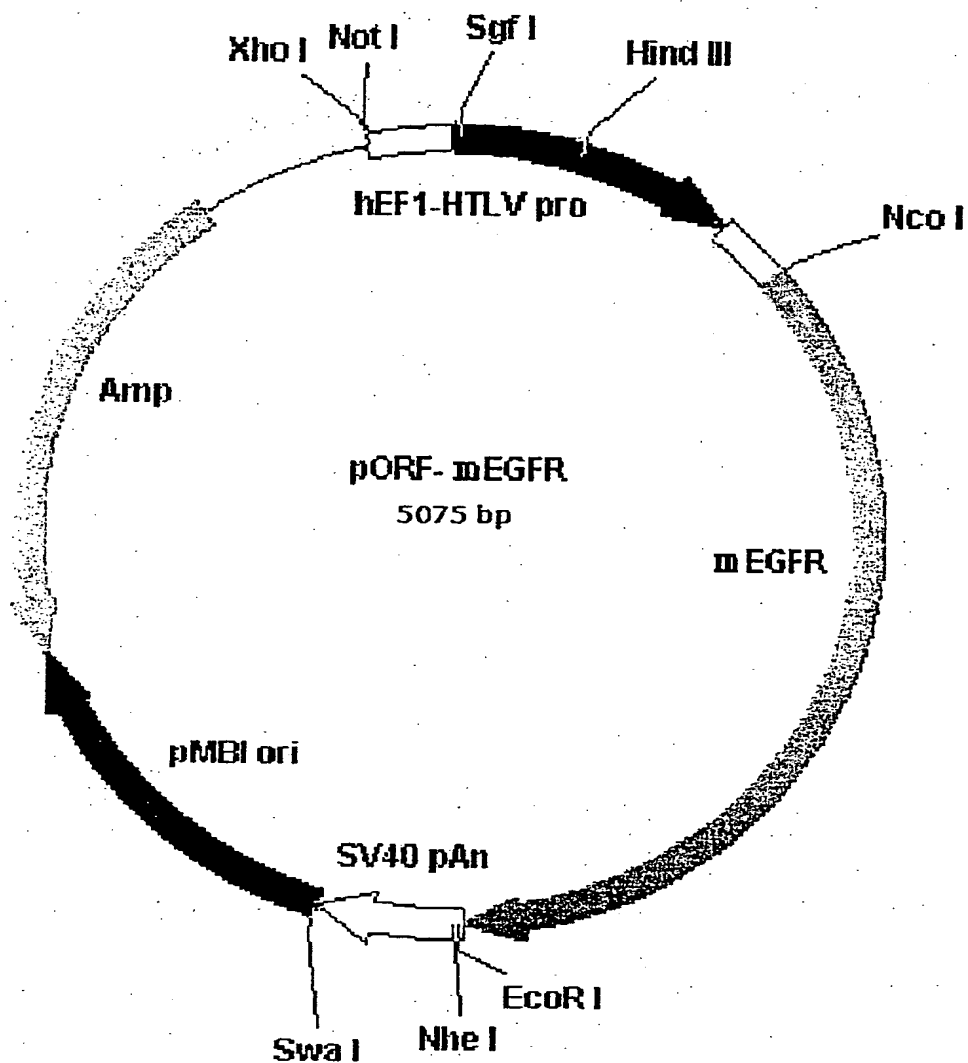
图 2 (续)

A4



A5

图 2 (续)



A6

图 2 (续)

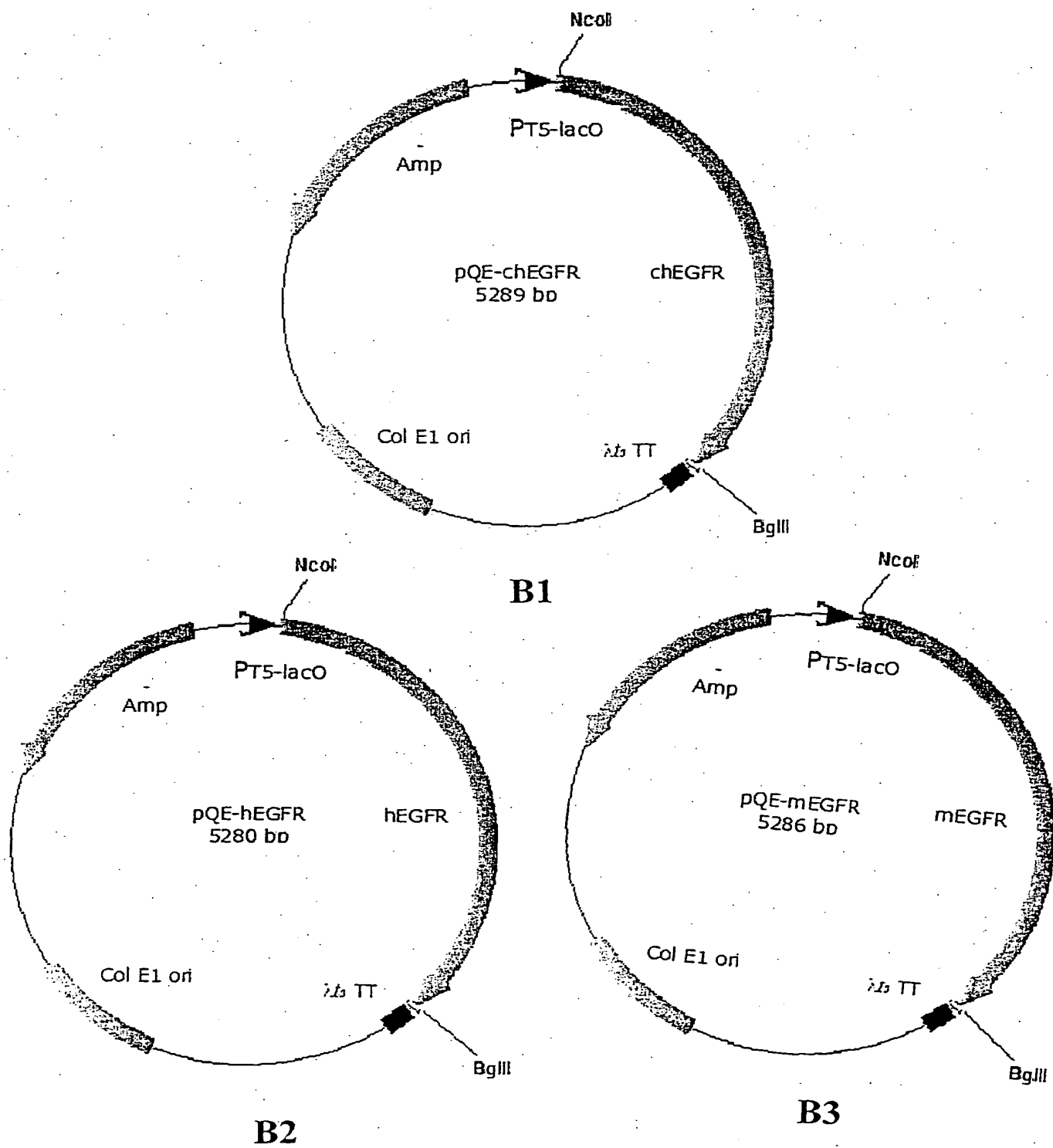
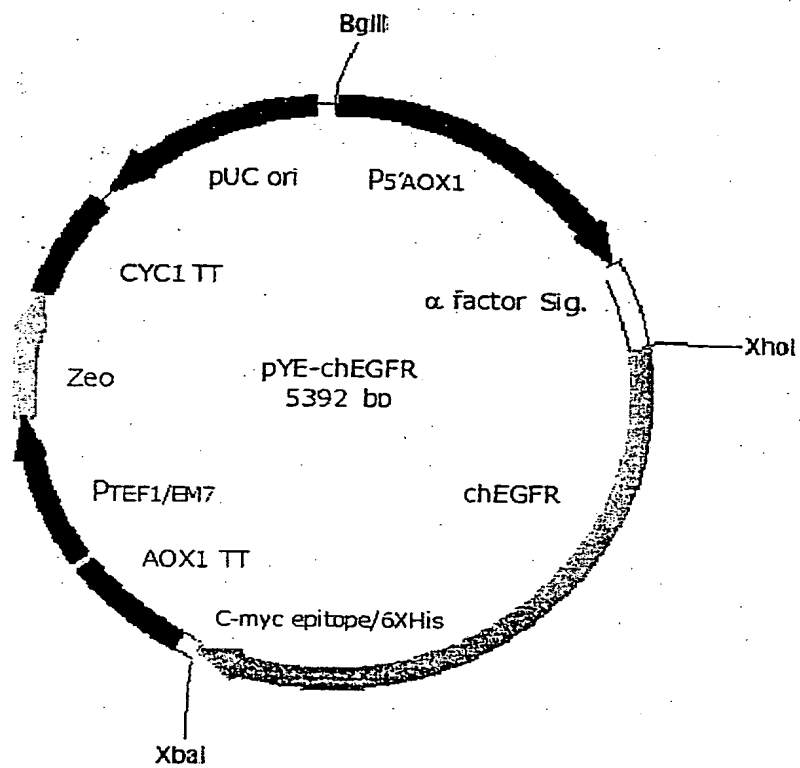
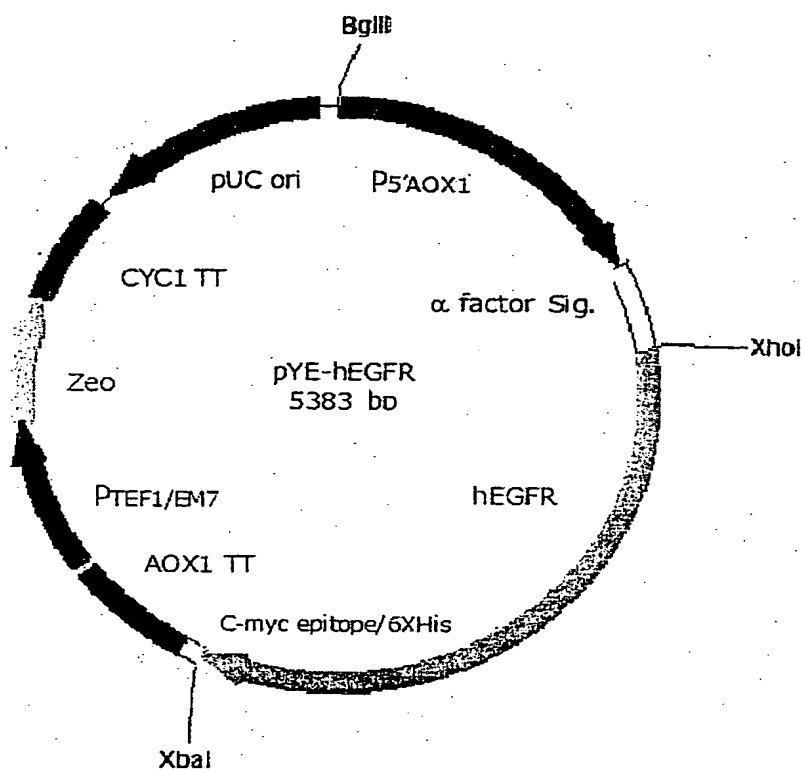


图 2 (续)



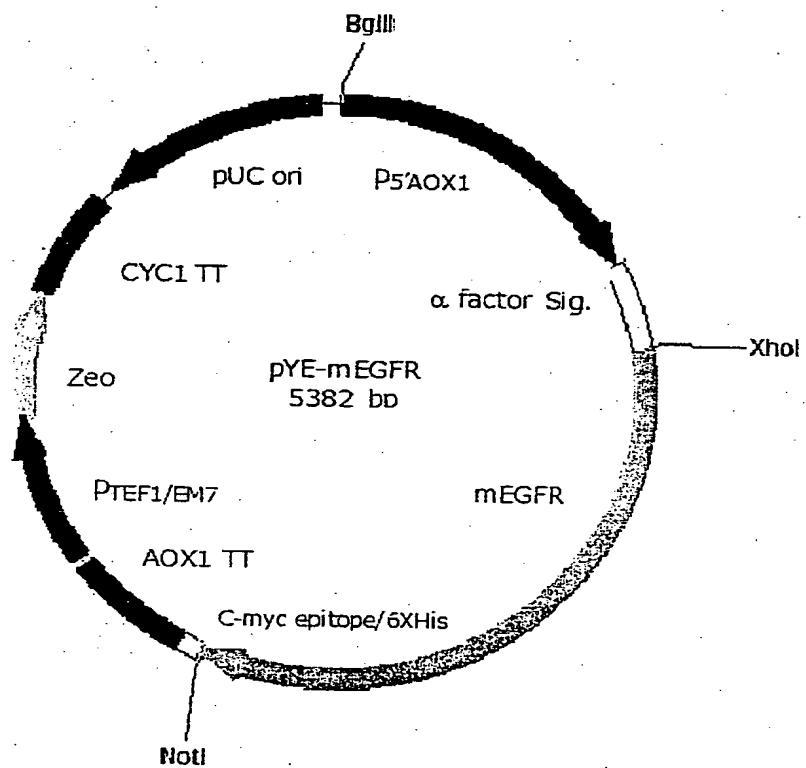
C1

图 2 (续)



C2

图 2 (续)



C3

图2 (续)

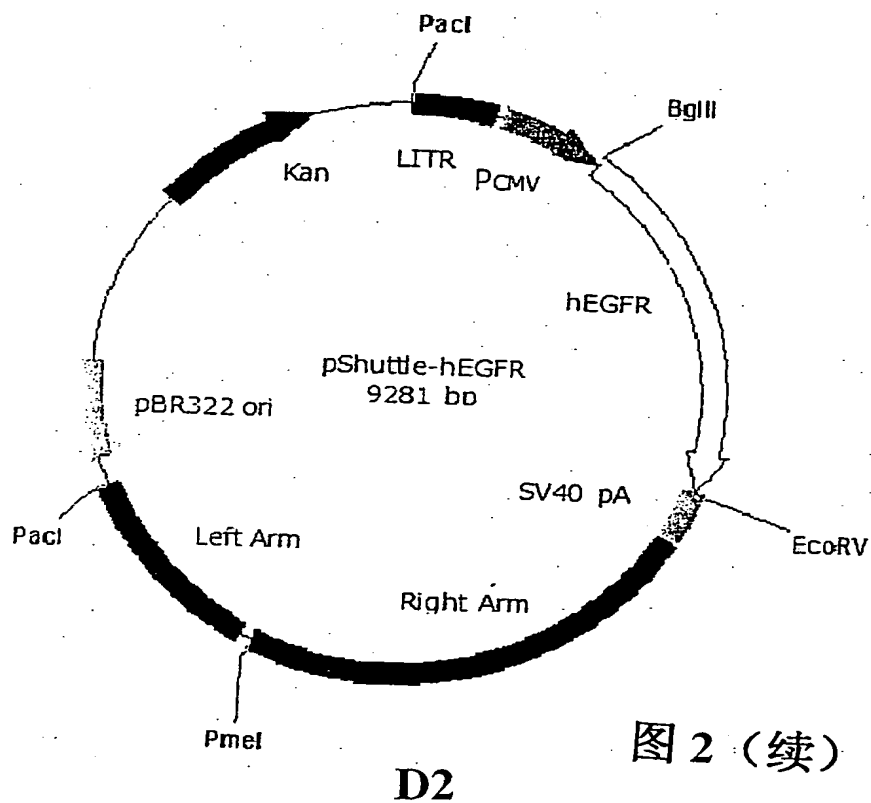
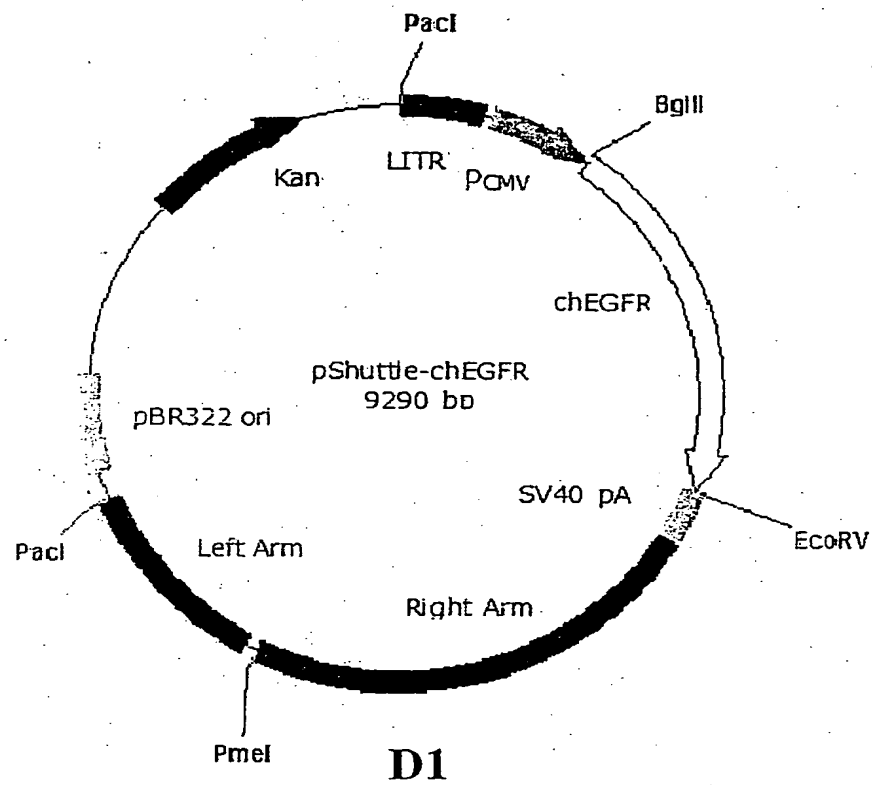
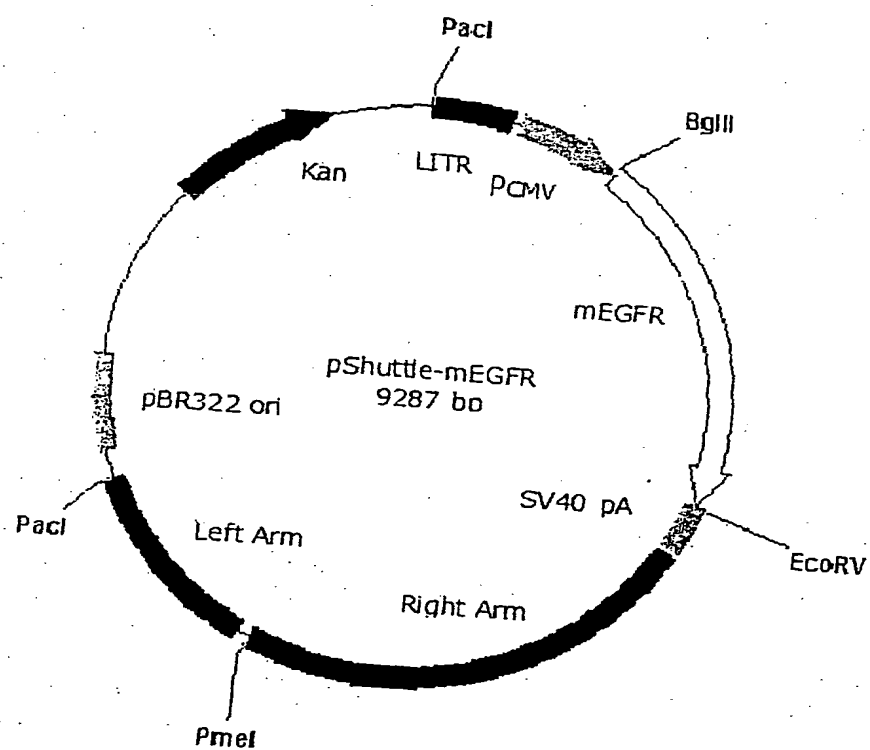


图 2 (续)



D3

图 2 (续)

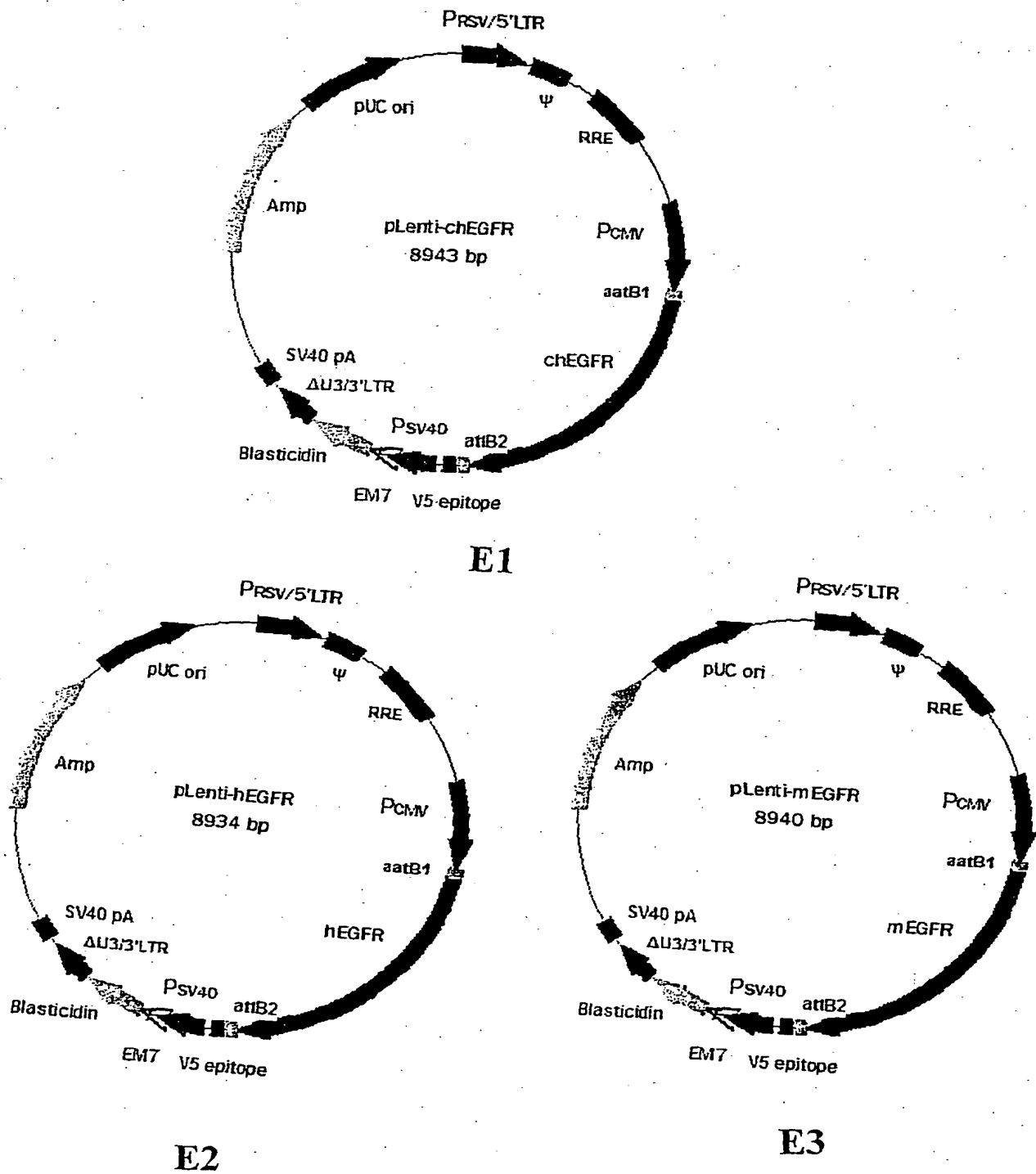
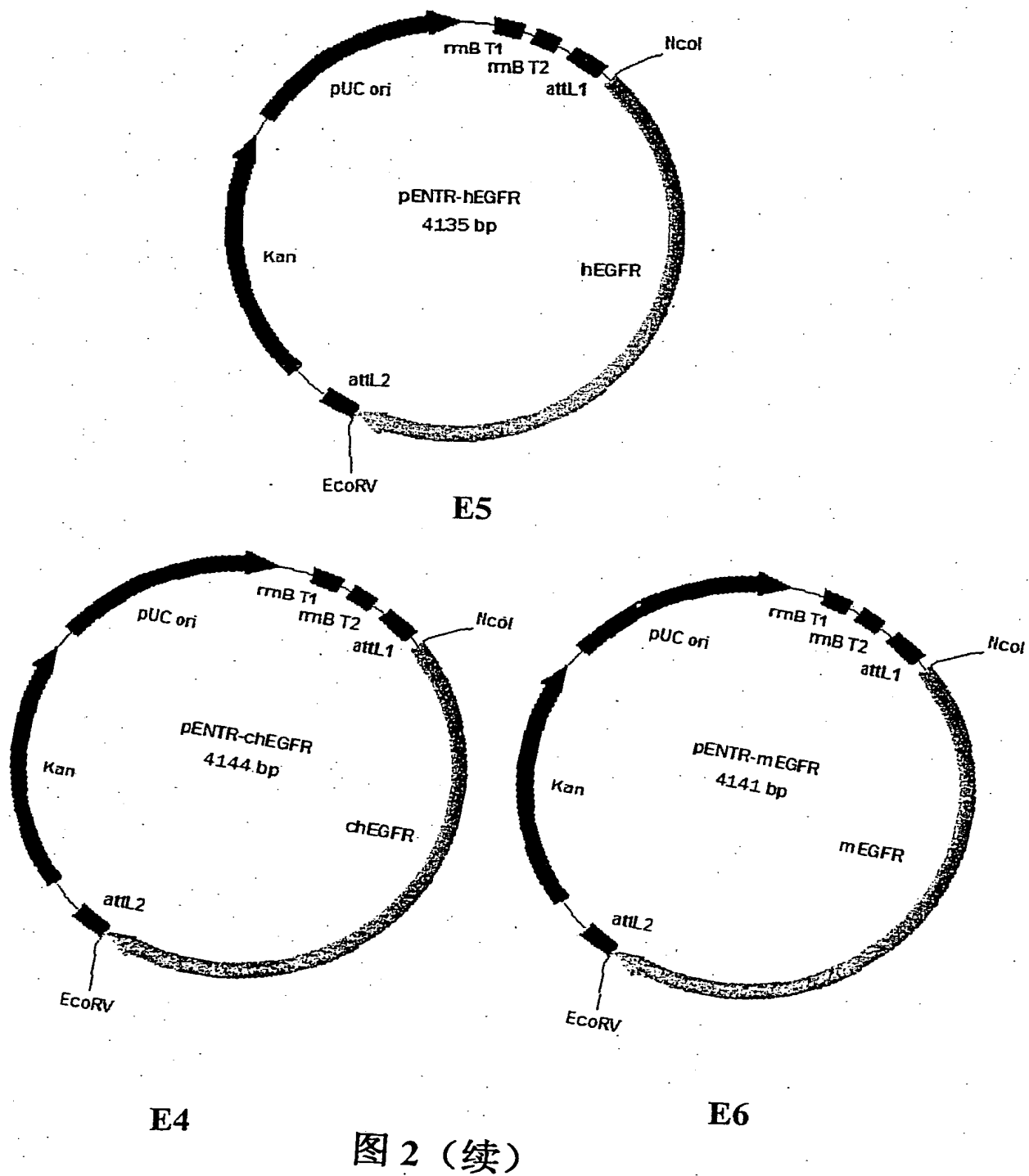


图 2 (续)



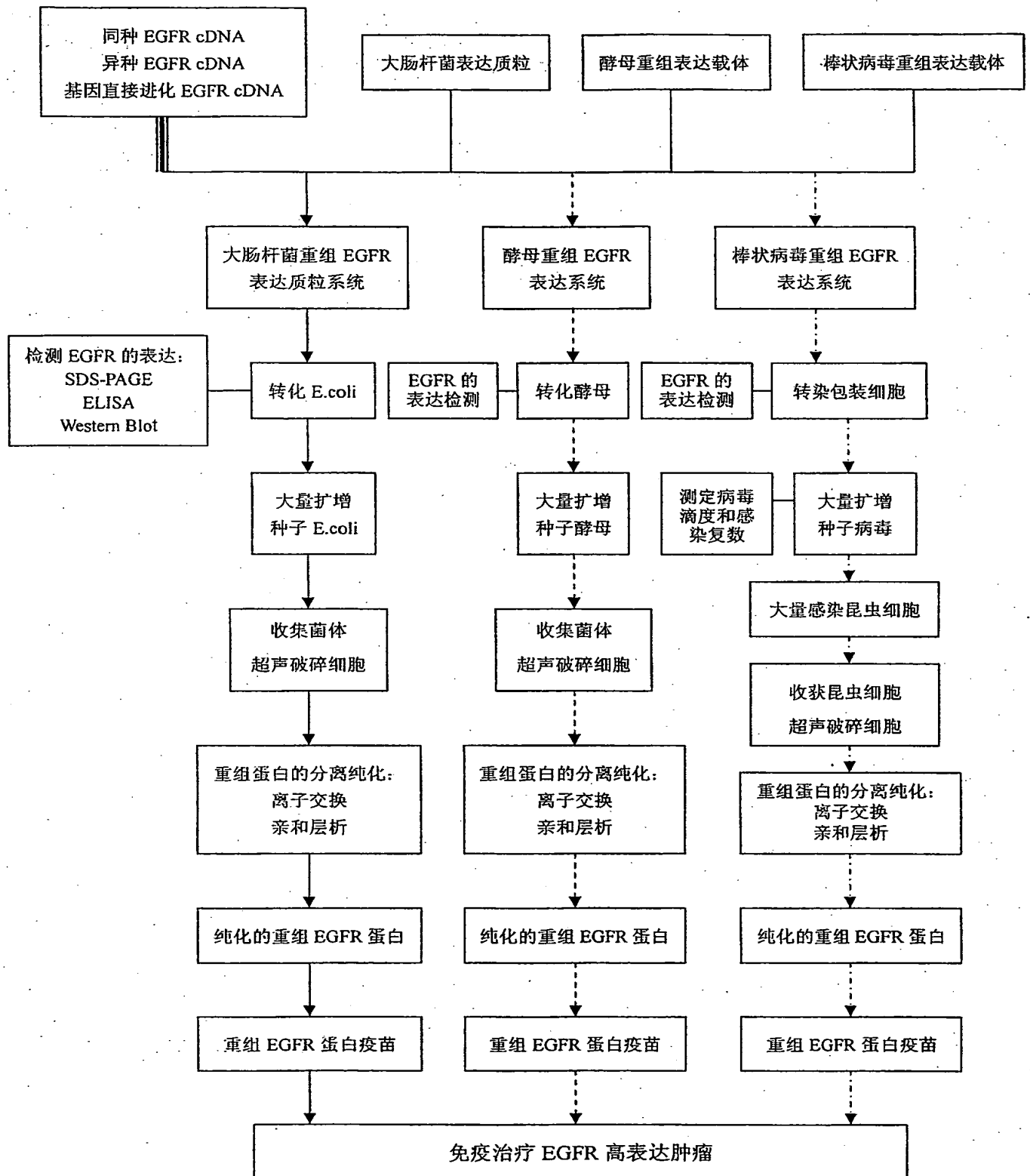


图 3

A

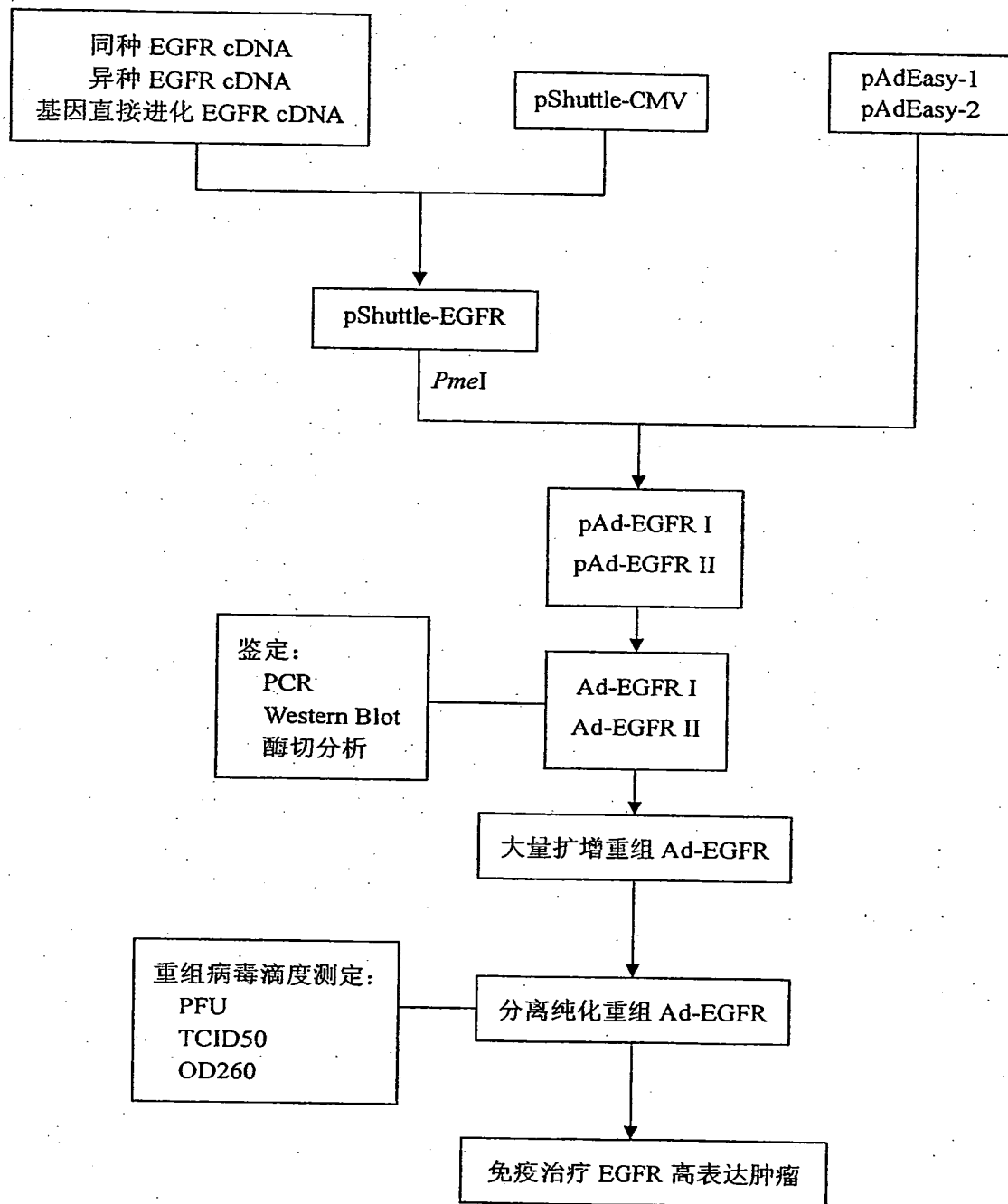


图 4

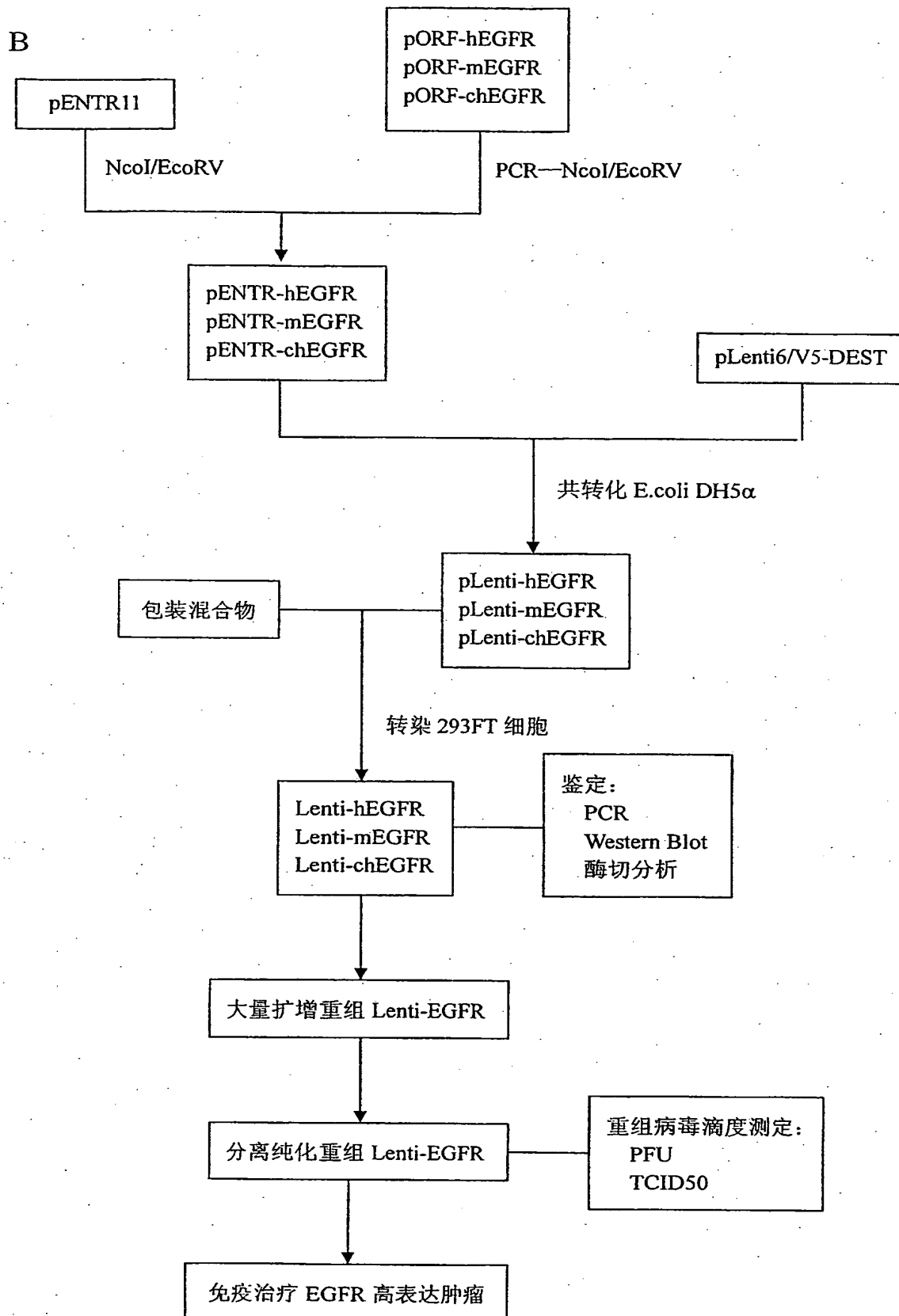


图 4 (续)

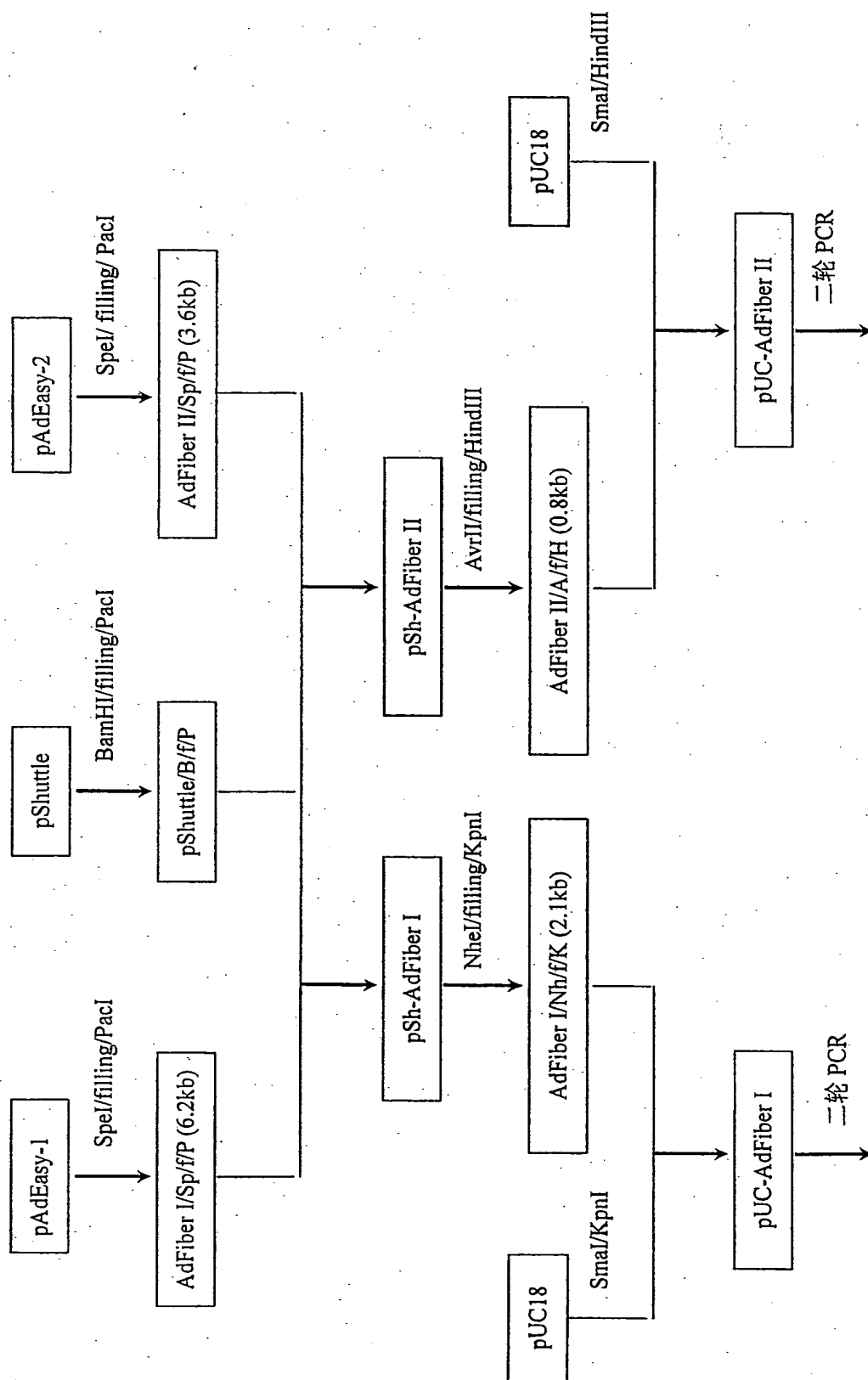


图 5

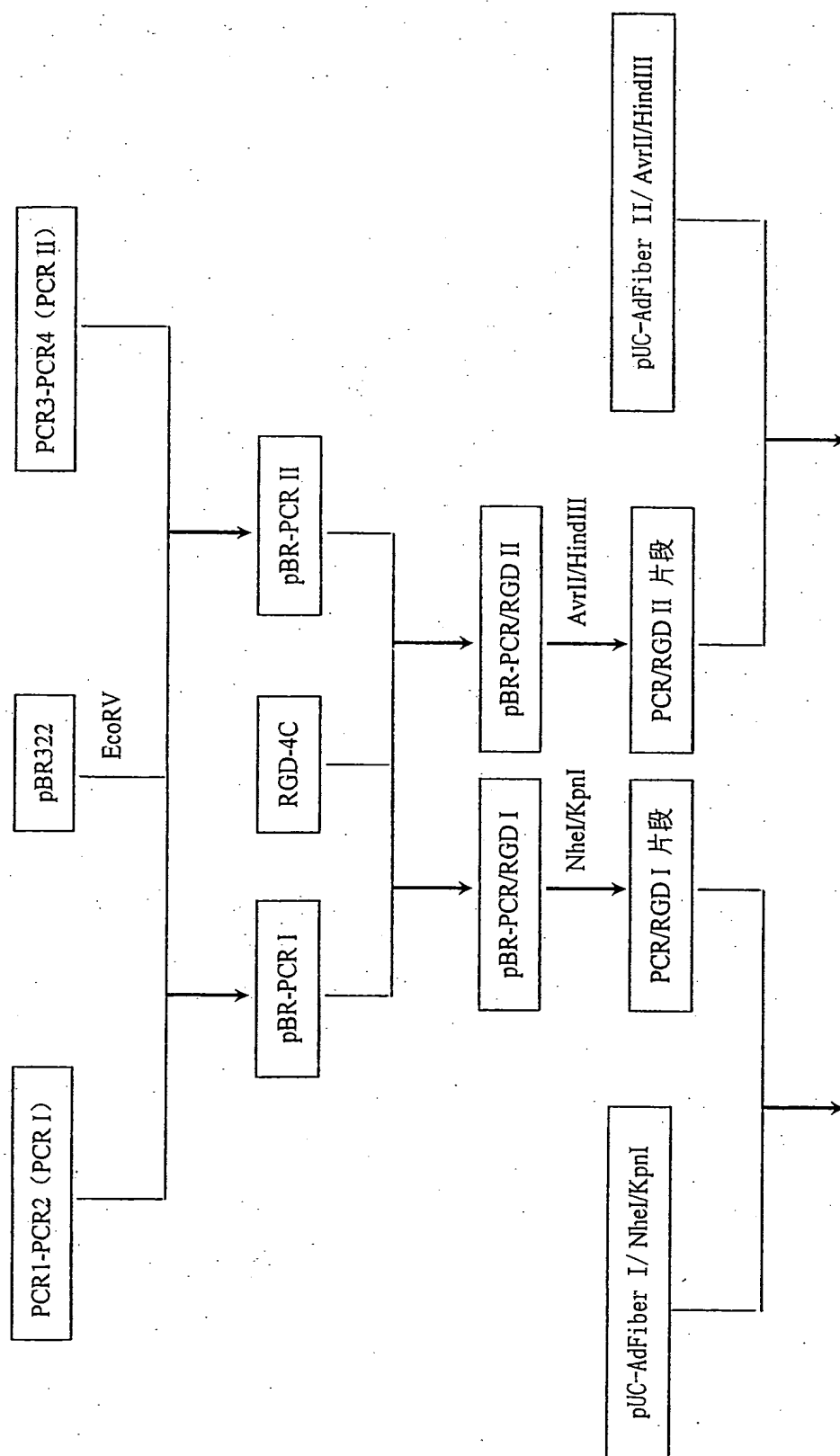


图 5 (续)

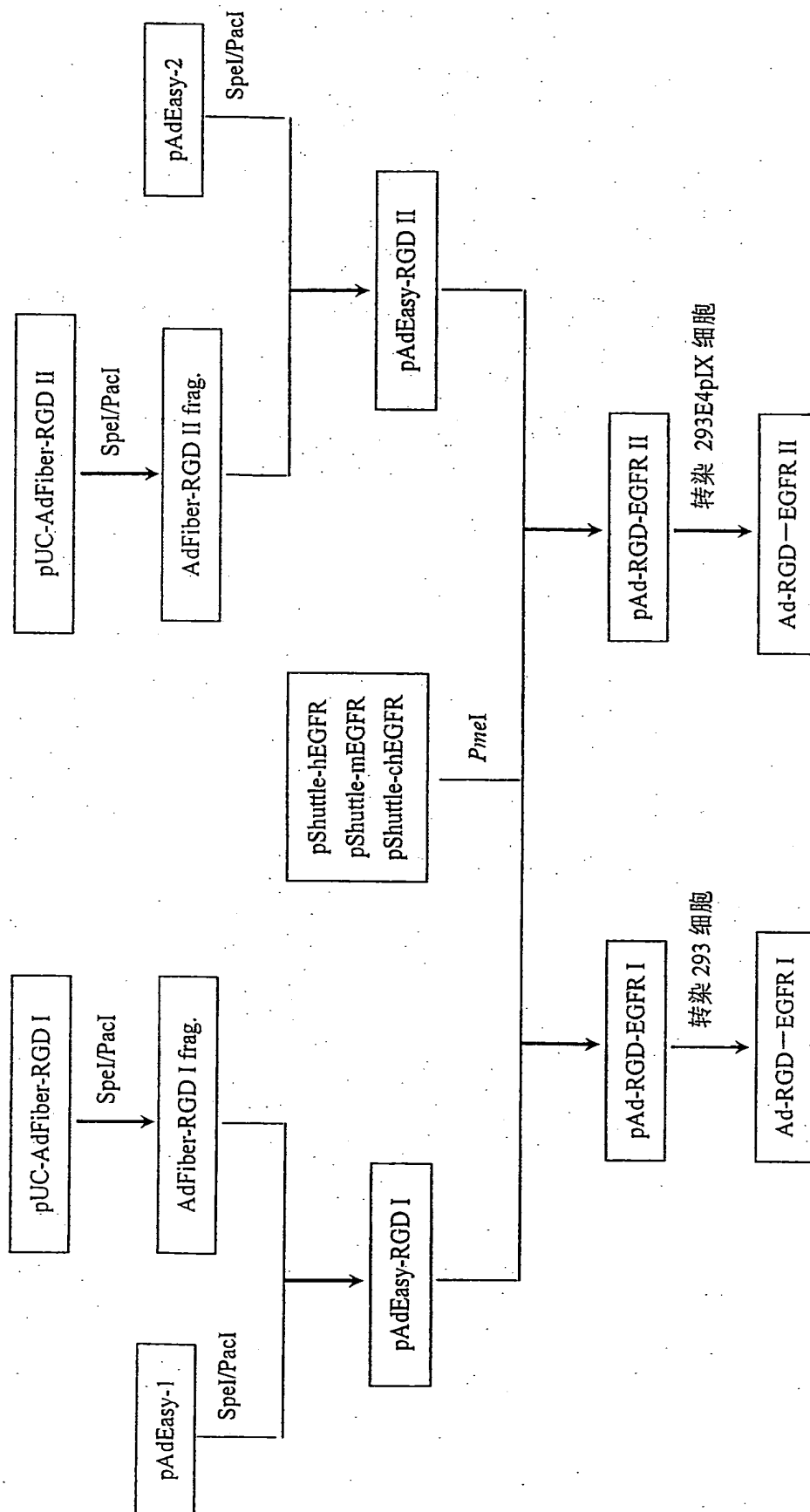


图 5 (续)

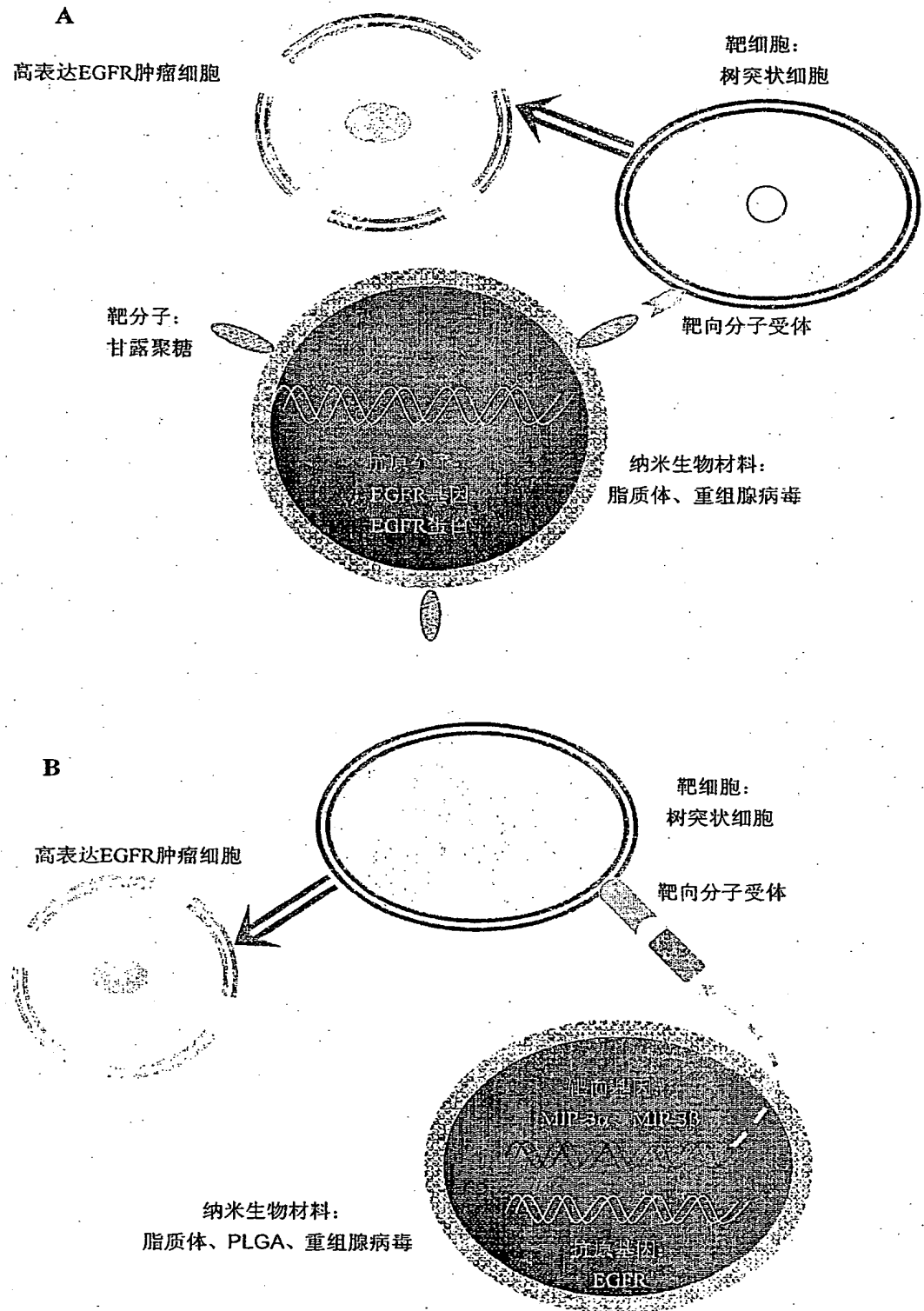


图 6

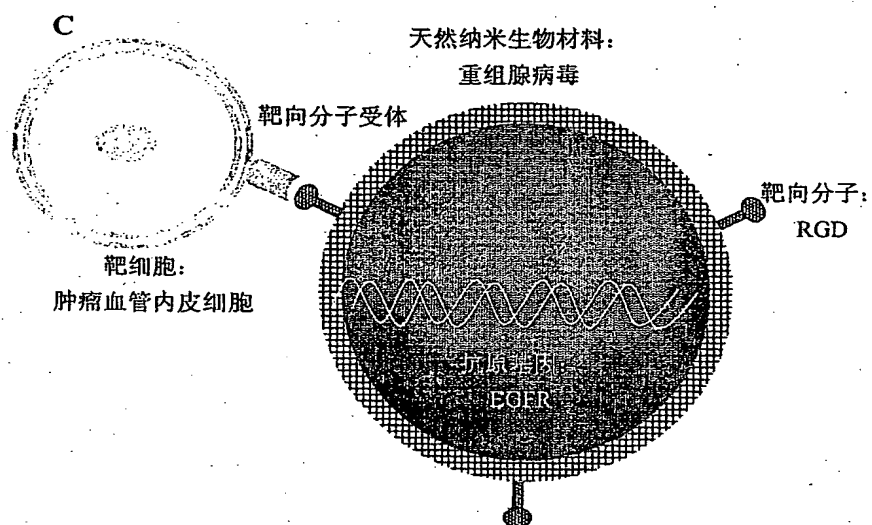


图 6 (续)

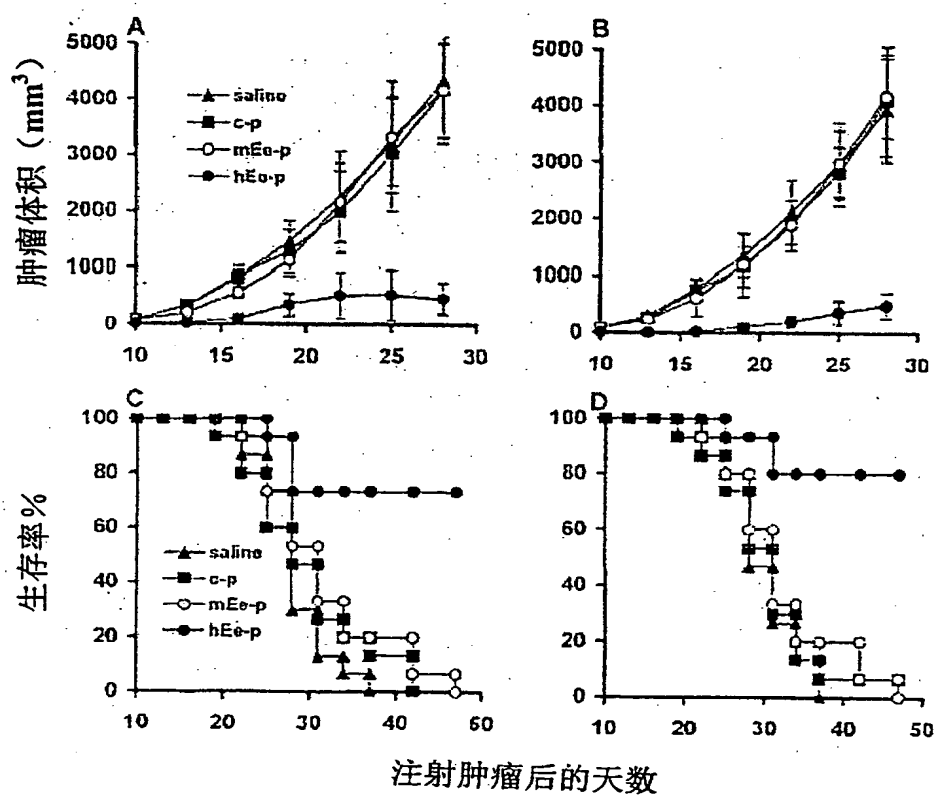


图 7

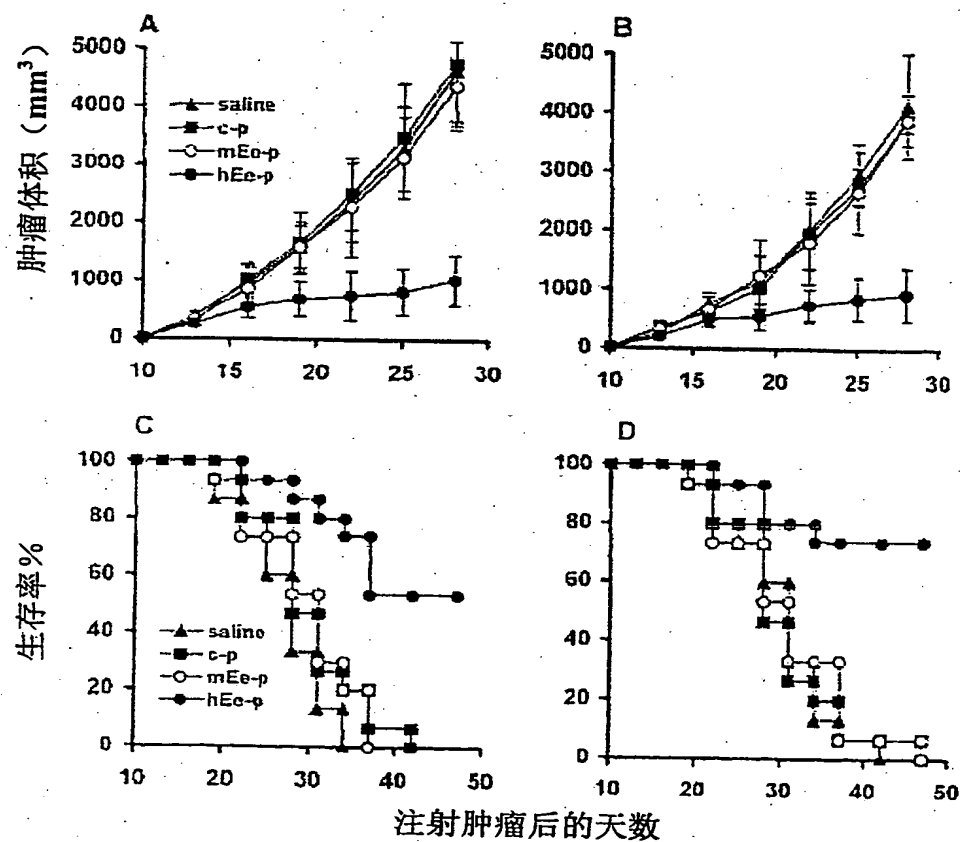


图 8

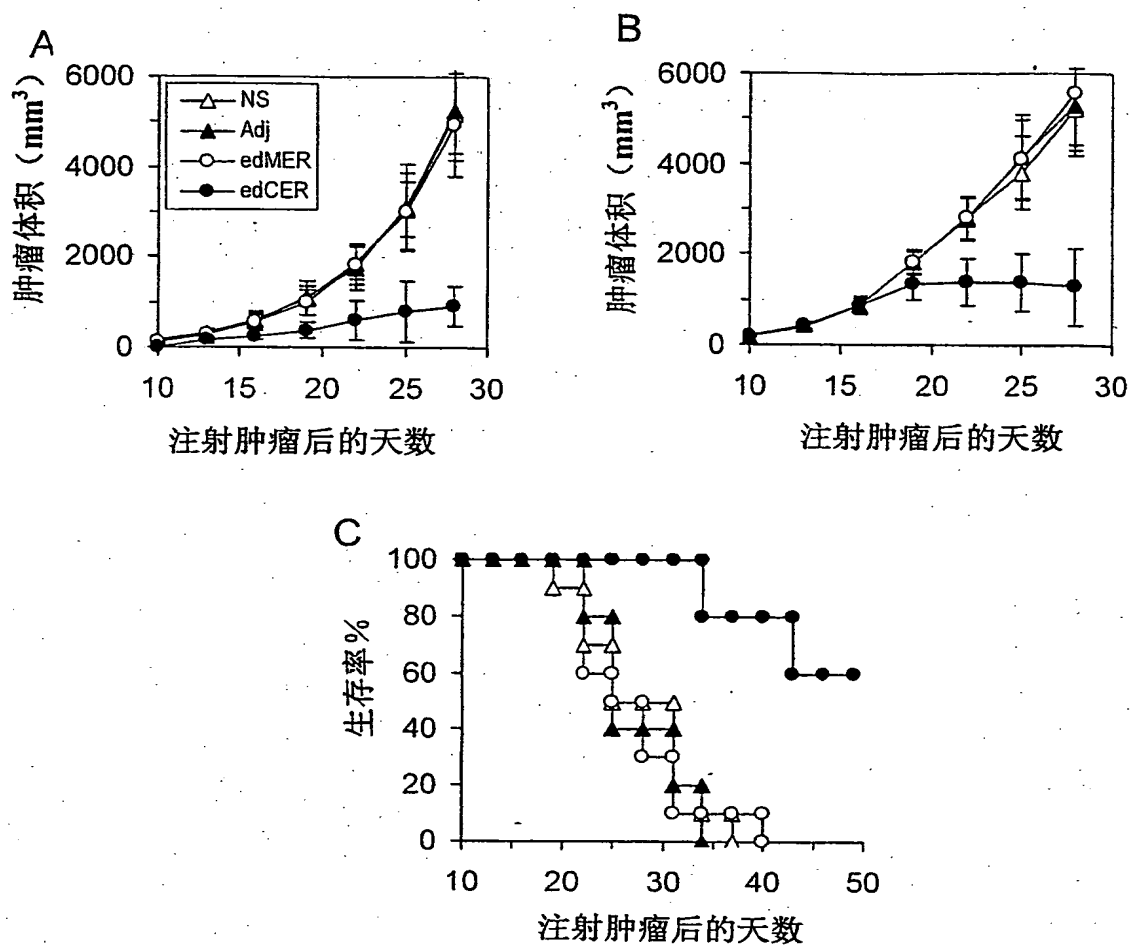


图 9

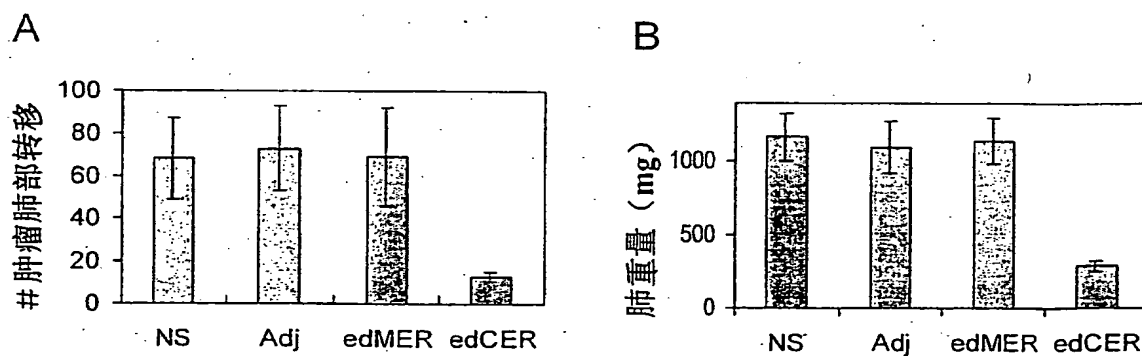


图 10

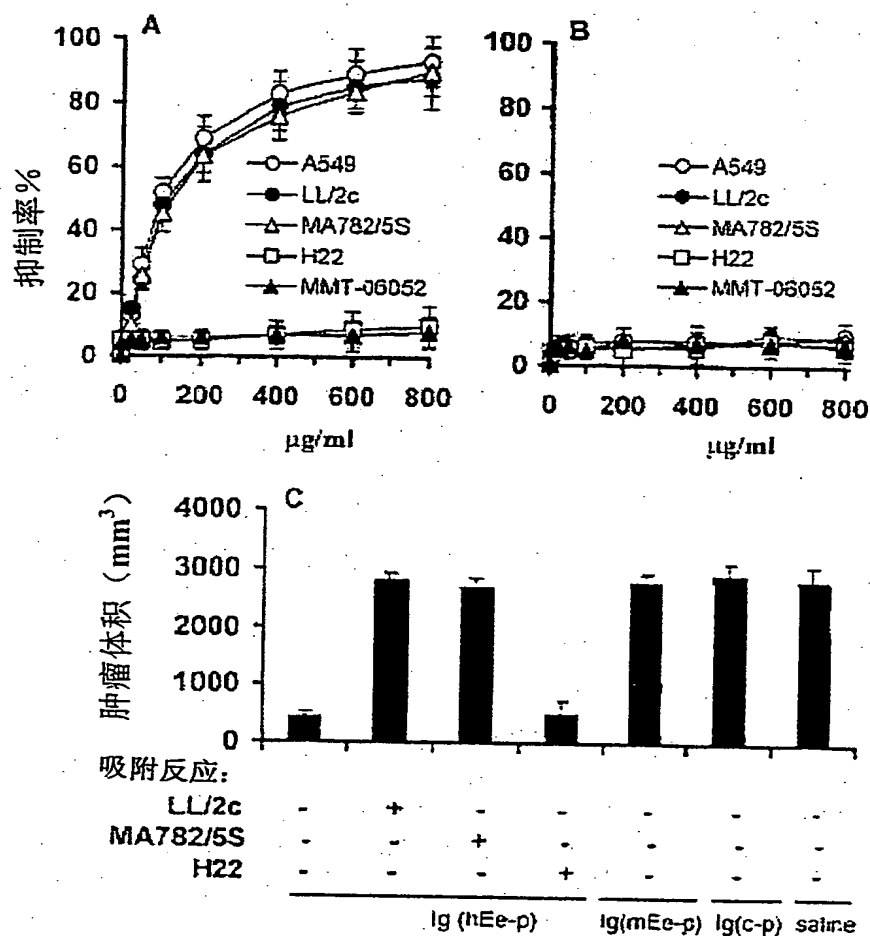


图 11

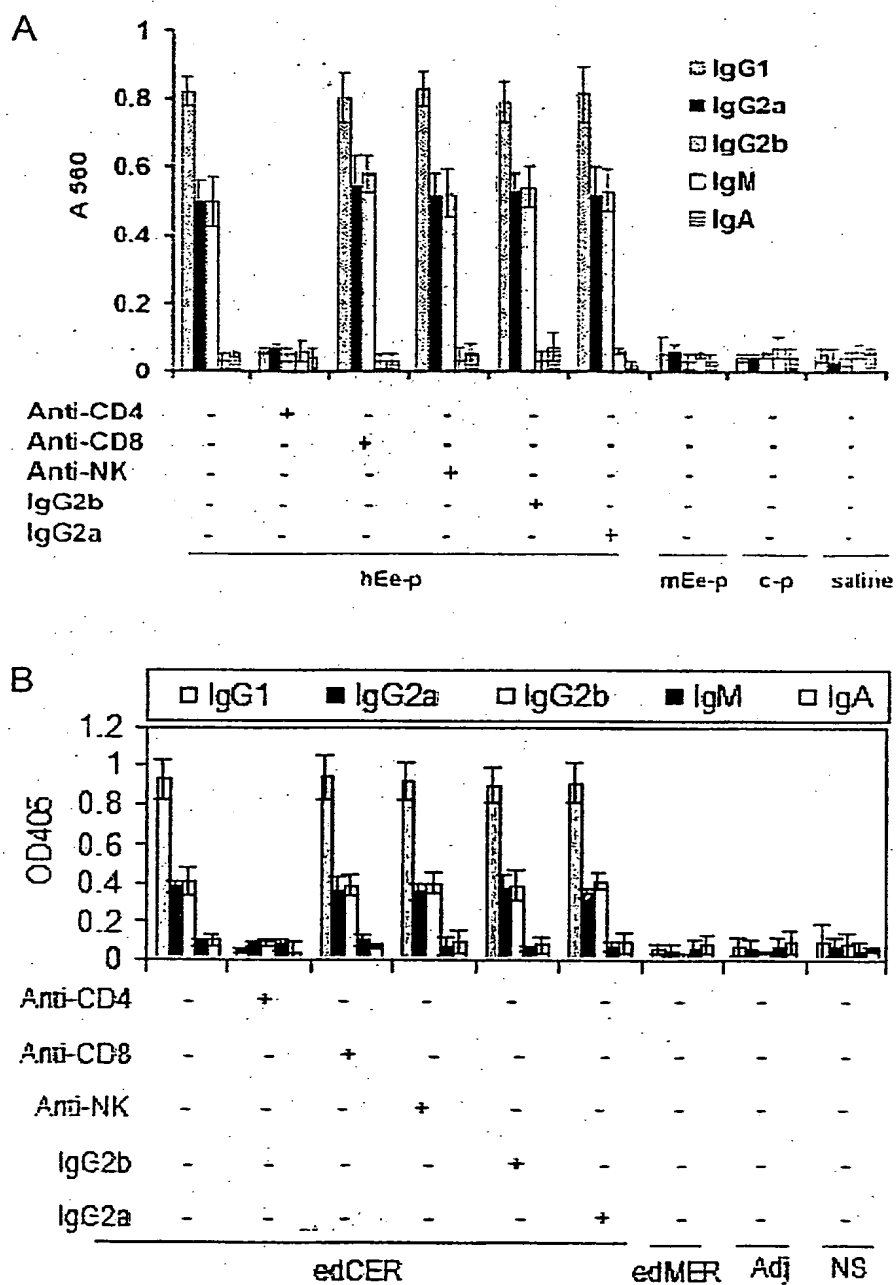


图 12

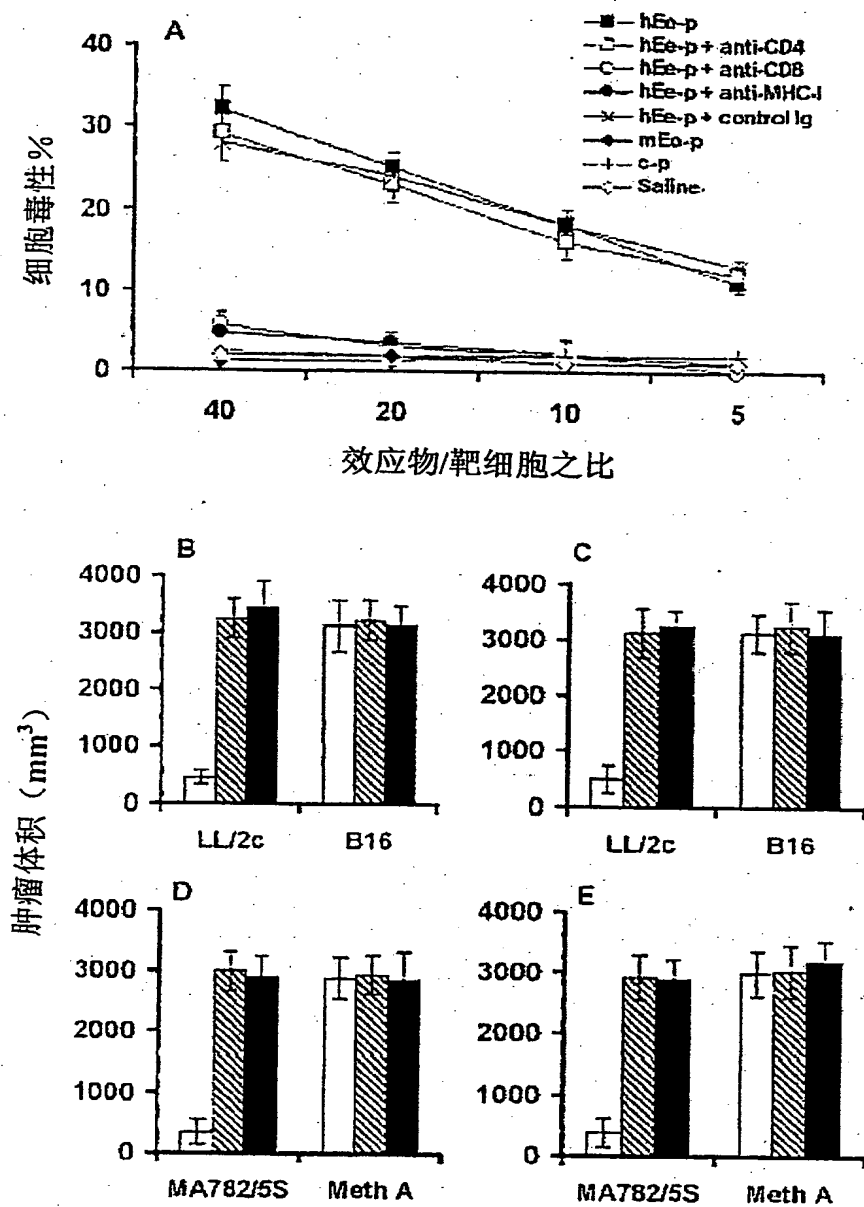


图 13

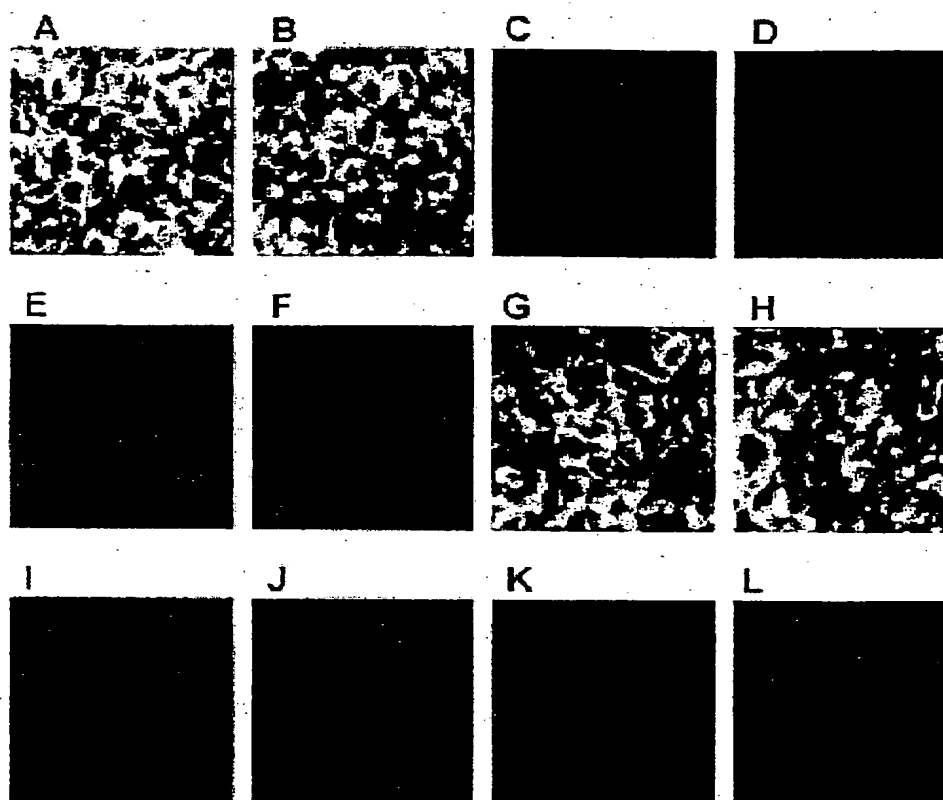


图 14

序列表

<110> 深圳市清华源兴生物医药科技有限公司

<120> 疫苗制备方法和抗肿瘤疫苗

<130> CPS40580

<150> CN02159602.6

<151> 2002-12-27

<160> 27

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 3633

<212> DNA

<213> 人(homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(3630)

<223>

<400> 1

atg cga ccc tcc ggg acg gcc ggg gca gcg ctc ctg gcg ctg ctg gct 48
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
 1 5 10 15

gcg ctc tgc ccg gcg agt cgg gct ctg gag gaa aag aaa gtt tgc caa 96
 Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

ggc acg agt aac aag ctc acg cag ttg ggc act ttt gaa gat cat ttt 144
 Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45

ctc agc ctc cag agg atg ttc aat aac tgt gag gtg gtc ctt ggg aat 192
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50 55 60

ttg gaa att acc tat gtg cag agg aat tat gat ctt tcc ttc tta aag 240
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65 70 75 80

acc atc cag gag gtg gct ggt tat gtc ctc att gcc ctc aac aca gtg 288
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95

gag cga att cct ttg gaa aac ctg cag atc atc aga gga aat atg tac 336
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
 100 105 110

tac gaa aat tcc tat gcc tta gca gtc tta tct aac tat gat gca aat 384
 Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
 115 120 125

aaa acc gga ctg aag gag ctg ccc atg aga aat tta cag gaa atc ctg 432
 Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130 135 140

cat ggc gcc gtg cgg ttc agc aac aac cct gcc ctg tgc aac gtg gag 480
 His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
 145 150 155 160

agc atc cag tgg cgg gac ata gtc agc agt gac ttt ctc agc aac atg 528
 Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
 165 170 175

tcg atg gac ttc cag aac cac ctg ggc agc tgc caa aag tgt gat cca 576
 Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
 180 185 190

agc tgt ccc aat ggg agc tgc tgg ggt gca gga gag gag aac tgc cag 624
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
 195 200 205

aaa ctg acc aaa atc atc tgt gcc cag cag tgc tcc ggg cgc tgc cgt 672
 Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
 210 215 220

ggc aag tcc ccc agt gac tgc tgc cac aac cag tgt gct gca ggc tgc 720
 Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
 225 230 235 240

aca ggc ccc cgg gag agc gac tgc ctg gtc tgc cgc aaa ttc cga gac 768
 Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
 245 250 255

gaa gcc acg tgc aag gac acc tgc ccc cca ctc atg ctc tac aac ccc 816
 Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
 260 265 270

acc acg tac cag atg gat gtg aac ccc gag ggc aaa tac agc ttt ggt 864
 Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275 280 285

gcc acc tgc gtg aag aag tgt ccc cgt aat tat gtg gtg aca gat cac 912
 Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 290 295 300

ggc tcg tgc gtc cga gcc tgt ggg gcc gac agc tat gag atg gag gaa 960
 Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu

305	310	315	320	
gac ggc gtc cgc aag tgt aag aag tgc gaa ggg cct tgc cgc aaa gtg				1008
Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val				
	325	330	335	
tgt aac gga ata ggt att ggt gaa ttt aaa gac tca ctc tcc ata aat				1056
Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn				
	340	345	350	
gct acg aat att aaa cac ttc aaa aac tgc acc tcc atc agt ggc gat				1104
Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp				
	355	360	365	
ctc cac atc ctg ccg gtg gca ttt agg ggt gac tcc ttc aca cat act				1152
Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr				
	370	375	380	
cct cct ctg gat cca cag gaa ctg gat att ctg aaa acc gta aag gaa				1200
Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu				
	385	390	400	
atc aca ggg ttt ttg ctg att cag gct tgg cct gaa aac agg acg gac				1248
Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp				
	405	410	415	
ctc cat gcc ttt gag aac cta gaa atc ata cgc ggc agg acc aag caa				1296
Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln				
	420	425	430	
cat ggt cag ttt tct ctt gca gtc gtc agc ctg aac ata aca tcc ttg				1344
His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu				
	435	440	445	
gga tta cgc tcc ctc aag gag ata agt gat gga gat gtg ata att tca				1392
Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser				
	450	455	460	
gga aac aaa aat ttg tgc tat gca aat aca ata aac tgg aaa aaa ctg				1440
Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu				
	465	470	480	
ttt ggg acc tcc ggt cag aaa acc aaa att ata agc aac aga ggt gaa				1488
Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu				
	485	490	495	
aac agc tgc aag gcc aca ggc cag gtc tgc cat gcc ttg tgc tcc ccc				1536
Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro				
	500	505	510	
gag ggc tgc tgg ggc ccg gag ccc agg gac tgc gtc tct tgc cgg aat				1584
Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn				
	515	520	525	
gtc agc cga ggc agg gaa tgc gtg gac aag tgc aac ctt ctg gag ggt				1632
Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly				
	530	535	540	
gag cca agg gag ttt gtg gag aac tct gag tgc ata cag tgc cac cca				1680
Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro				
	545	550	560	
gag tgc ctg cct cag gcc atg aac atc acc tgc aca gga cgg gga cca				1728

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575
 gac aac tgt atc cag tgt gcc cac tac att gac ggc ccc cac tgc gtc 1776
 Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590
 aag acc tgc ccg gca gga gtc atg gga gaa aac aac acc ctg gtc tgg 1824
 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605
 aag tac gca gac gcc ggc cat gtg tgc cac ctg tgc cat cca aac tgc 1872
 Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
 610 615 620
 acc tac gga tgc act ggg cca ggt ctt gaa ggc tgt cca acg aat ggg 1920
 Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
 625 630 635 640
 cct aag atc ccg tcc atc gcc act ggg atg gtg ggg gcc ctc ctc ttg 1968
 Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu
 645 650 655
 ctg ctg gtg gtg gcc ctg ggg atc ggc ctc ttc atg cga agg cgc cac 2016
 Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His
 660 665 670
 atc gtt cgg aag cgc acg ctg cgg agg ctg ctg cag gag agg gag ctt 2064
 Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu
 675 680 685
 gtg gag cct ctt aca ccc agt gga gaa gct ccc aac caa gct ctc ttg 2112
 Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu
 690 695 700
 agg atc ttg aag gaa act gaa ttc aaa aag atc aaa gtg ctg ggc tcc 2160
 Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser
 705 710 715 720
 ggt gcg ttc ggc acg gtg tat aag gga ctc tgg atc cca gaa ggt gag 2208
 Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu
 725 730 735
 aaa gtt aaa att ccc gtc gct atc aag gaa tta aga gaa gca aca tct 2256
 Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser
 740 745 750
 ccg aaa gcc aac aag gaa atc ctc gat gaa gcc tac gtg atg gcc agc 2304
 Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser
 755 760 765
 gtg gac aac ccc cac gtg tgc cgc ctg ctg ggc atc tgc ctc acc tcc 2352
 Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser
 770 775 780
 acc gtg cag ctc atc acg cag ctc atg ccc ttc ggc tgc ctc ctg gac 2400
 Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp
 785 790 795 800
 tat gtc cgg gaa cac aaa gac aat att ggc tcc cag tac ctg ctc aac 2448
 Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn
 805 810 815

tgg tgt gtg cag atc gca aag ggc atg aac tac ttg gag gac cgt cgc 2496
 Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg
 820 825 830

ttg gtg cac cgc gac ctg gca gcc agg aac gta ctg gtg aaa aca ccg 2544
 Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro
 835 840 845

cag cat gtc aag atc aca gat ttt ggg ctg gcc aaa ctg ctg ggt gcg 2592
 Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala
 850 855 860

gaa gag aaa gaa tac cat gca gaa gga ggc aaa gtg cct atc aag tgg 2640
 Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp
 865 870 875 880

atg gca ttg gaa tca att tta cac aga atc tat acc cac cag agt gat 2688
 Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp
 885 890 895

gtc tgg agc tac ggg gtg acc gtt tgg gag ttg atg acc ttt gga tcc 2736
 Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser
 900 905 910

aag cca tat gac gga atc cct gcc agc gag atc tcc tcc atc ctg gag 2784
 Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu
 915 920 925

aaa gga gaa cgc ctc cct cag cca ccc ata tgt acc atc gat gtc tac 2832
 Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr
 930 935 940

atg atc atg gtc aag tgc tgg atg ata gac gca gat agt cgc cca aag 2880
 Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys
 945 950 955 960

ttc cgt gag ttg atc atc gaa ttc tcc aaa atg gcc cga gac ccc cag 2928
 Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln
 965 970 975

cgc tac ctt gtc att cag ggg gat gaa aga atg cat ttg cca agt cct 2976
 Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro
 980 985 990

aca gac tcc aac ttc tac cgt gcc ctg atg gat gaa gaa gac atg gac 3024
 Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp
 995 1000 1005

gac gtg gtg gat gcc gac gag tac ctc atc cca cag cag ggc ttc 3069
 Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe
 1010 1015 1020

ttc agc agc ccc tcc acg tca cgg act ccc ctc ctg agc tct ctg 3114
 Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu
 1025 1030 1035

agt gca acc agc aac aat tcc acc gtg gct tgc att gat aga aat 3159
 Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn
 1040 1045 1050

ggg ctg caa agc tgt ccc atc aag gaa gac agc ttc ttg cag cga 3204
 Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg
 1055 1060 1065

tac agc tca gac ccc aca ggc gcc ttg act gag gac agc ata gac 3249
 Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp
 1070 1075 1080

gac acc ttc ctc cca gtg cct gaa tac ata aac cag tcc gtt ccc 3294
 Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro
 1085 1090 1095

aaa agg ccc gct ggc tct gtg cag aat cct gtc tat cac aat cag 3339
 Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln
 1100 1105 1110

cct ctg aac ccc gcg ccc agc aga gac cca cac tac cag gac ccc 3384
 Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro
 1115 1120 1125

cac agc act gca gtg ggc aac ccc gag tat ctc aac act gtc cag 3429
 His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln
 1130 1135 1140

ccc acc tgt gtc aac agc aca ttc gac agc cct gcc cac tgg gcc 3474
 Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala
 1145 1150 1155

cag aaa ggc agc cac caa att agc ctg gac aac cct gac tac cag 3519
 Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
 1160 1165 1170

cag gac ttc ttt ccc aag gaa gcc aag cca aat ggc atc ttt aag 3564
 Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
 1175 1180 1185

ggc tcc aca gct gaa aat gca gaa tac cta agg gtc gcg cca caa 3609
 Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
 1190 1195 1200

agc agt gaa ttt att gga gca tga 3633
 Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
 1205 1210

<210> 2

<211> 1210

<212> PRT

<213> 人(homo sapiens)

<400> 2

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
 1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe

35

40

45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460

Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480

Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
485 490 495

Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
610 615 620

Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
625 630 635 640

Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu
645 650 655

Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His
660 665 670

Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu
675 680 685

Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu
690 695 700

Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser
705 710 715 720

Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu
725 730 735

Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser
740 745 750

Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser
755 760 765

Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser
770 775 780

Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp
785 790 795 800

Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn
805 810 815

Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg
820 825 830

Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro
835 840 845

Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala
850 855 860

Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp
865 870 875 880

Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp
885 890 895

Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser
900 905 910

Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu
915 920 925

Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr
930 935 940

Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys
945 950 955 960

Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln
965 970 975

Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro
980 985 990

Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp
995 1000 1005

Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe
1010 1015 1020

Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu
1025 1030 1035

Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn

1040 1045 1050

Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg
1055 1060 1065

Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp
1070 1075 1080

Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro
1085 1090 1095

Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln
1100 1105 1110

Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro
1115 1120 1125

His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln
1130 1135 1140

Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala
1145 1150 1155

Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
1160 1165 1170

Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
1175 1180 1185

Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
1190 1195 1200

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
1205 1210

<210> 3

<211> 1974

<212> DNA

<213> 人(homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1971)

<223>

<400> 3

atg cga ccc tcc ggg acg gcc ggg gca gcg ctc ctg gcg ctg ctg gct 48
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
 1 5 10 15

gcg ctc tgc ccg gcg agt cgg gct ctg gag gaa aag aaa gtt tgc caa 96
 Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

ggc acg agt aac aag ctc acg cag ttg ggc act ttt gaa gat cat ttt 144
 Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45

ctc agc ctc cag agg atg ttc aat aac tgt gag gtg gtc ctt ggg aat 192
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50 55 60

ttg gaa att acc tat gtg cag agg aat tat gat ctt tcc ttc tta aag 240
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65 70 75 80

acc atc cag gag gtg gct ggt tat gtc ctc att gcc ctc aac aca gtg 288
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95

gag cga att cct ttg gaa aac ctg cag atc atc aga gga aat atg tac 336
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
 100 105 110

tac gaa aat tcc tat gcc tta gca gtc tta tct aac tat gat gca aat 384
 Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
 115 120 125

aaa acc gga ctg aag gag ctg ccc atg aga aat tta cag gaa atc ctg 432
 Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130 135 140

cat ggc gcc gtg cgg ttc agc aac aac cct gcc ctg tgc aac gtg gag 480
 His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
 145 150 155 160

agc atc cag tgg cgg gac ata gtc agc agt gac ttt ctc agc aac atg 528
 Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
 165 170 175

tcg atg gac ttc cag aac cac ctg ggc agc tgc caa aag tgt gat cca 576
 Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
 180 185 190

agc tgt ccc aat ggg agc tgc tgg ggt gca gga gag gag aac tgc cag 624
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
 195 200 205

aaa ctg acc aaa atc atc tgt gcc cag cag tgc tcc ggg cgc tgc cgt 672
 Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
 210 215 220

ggc aag tcc ccc agt gac tgc tgc cac aac cag tgt gct gca ggc tgc 720
 Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys

225 230 235 240
 aca ggc ccc cgg gag agc gac tgc ctg gtc tgc cgc aaa ttc cga gac 768
 Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
 245 250 255
 gaa gcc acg tgc aag gac acc tgc ccc cca ctc atg ctc tac aac ccc 816
 Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
 260 265 270
 acc acg tac cag atg gat gtg aac ccc gag ggc aaa tac agc ttt ggt 864
 Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275 280 285
 gcc acc tgc gtg aag aag tgt ccc cgt aat tat gtg gtg aca gat cac 912
 Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 290 295 300
 ggc tgc tgc gtc cga gcc tgt ggg gcc gac agc tat gag atg gag gaa 960
 Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
 305 310 315 320
 gac ggc gtc cgc aag tgt aag aag tgc gaa ggg cct tgc cgc aaa gtg 1008
 Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
 325 330 335
 tgt aac gga ata ggt att ggt gaa ttt aaa gac tca ctc tcc ata aat 1056
 Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
 340 345 350
 gct acg aat att aaa cac ttc aaa aac tgc acc tcc atc agt ggc gat 1104
 Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
 355 360 365
 ctc cac atc ctg ccg gtg gca ttt agg ggt gac tcc ttc aca cat act 1152
 Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
 370 375 380
 cct cct ctg gat cca cag gaa ctg gat att ctg aaa acc gta aag gaa 1200
 Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
 385 390 395 400
 atc aca ggg ttt ttg ctg att cag gct tgg cct gaa aac agg acg gac 1248
 Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
 405 410 415
 ctc cat gcc ttt gag aac cta gaa atc ata cgc ggc agg acc aag caa 1296
 Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
 420 425 430
 cat ggt cag ttt tct ctt gca gtc gtc agc ctg aac ata aca tcc ttg 1344
 His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
 435 440 445
 gga tta cgc tcc ctc aag gag ata agt gat gga gat gtg ata att tca 1392
 Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
 450 455 460
 gga aac aaa aat ttg tgc tat gca aat aca ata aac tgg aaa aaa ctg 1440
 Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
 465 470 475 480
 ttt ggg acc tcc ggt cag aaa acc aaa att ata agc aac aga ggt gaa 1488

Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
 485 490 495
 aac agc tgc aag gcc aca ggc cag gtc tgc cat gcc ttg tgc tcc ccc 1536
 Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
 500 505 510
 gag ggc tgc tgg ggc ccg gag ccc agg gac tgc gtc tct tgc cgg aat 1584
 Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
 515 520 525
 gtc agc cga ggc agg gaa tgc gtg gac aag tgc aac ctt ctg gag ggt 1632
 Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
 530 535 540
 gag cca agg gag ttt gtg gag aac tct gag tgc ata cag tgc cac cca 1680
 Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
 545 550 555 560
 gag tgc ctg cct cag gcc atg aac atc acc tgc aca gga cgg gga cca 1728
 Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575
 gac aac tgt atc cag tgt gcc cac tac att gac ggc ccc cac tgc gtc 1776
 Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590
 aag acc tgc ccg gca gga gtc atg gga gaa aac aac acc ctg gtc tgg 1824
 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605
 aag tac gca gac gcc ggc cat gtg tgc cac ctg tgc cat cca aac tgc 1872
 Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
 610 615 620
 acc tac gga tgc act ggg cca ggt ctt gaa ggc tgt cca acg aat gga 1920
 Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
 625 630 635 640
 agc tac ata gtg tct cac ttt cca aga tca ttc tac aag atg tca gtg 1968
 Ser Tyr Ile Val Ser His Phe Pro Arg Ser Phe Tyr Lys Met Ser Val
 645 650 655
 cac tga 1974
 His

<210> 4

<211> 657

<212> PRT

<213> 人(homo sapiens)

<400> 4

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
 1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
 305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
 325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
 340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
 355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
 370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
 385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
 405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
 420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
 435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
 450 455 460

Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
 465 470 475 480

Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
 485 490 495

Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
 500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
 16

515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
 530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
 545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
 610 615 620

Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
 625 630 635 640

Ser Tyr Ile Val Ser His Phe Pro Arg Ser Phe Tyr Lys Met Ser Val
 645 650 655

His

<210> 5

<211> 2118

<212> DNA

<213> 人(homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2115)

<223>

<400> 5

atg cga ccc tcc ggg acg gcc ggg gca gcg ctc ctg gcg ctg gct 48
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Ala
 1 5 10 15

gcg ctc tgc ccg gcg agt cgg gct ctg gag gaa aag aaa gtt tgc caa 96
 Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

ggc acg agt aac aag ctc acg cag ttg ggc act ttt gaa gat cat ttt 144
 Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45

ctc agc ctc cag agg atg ttc aat aac tgt gag gtg gtc ctt ggg aat 192
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50 55 60

ttg gaa att acc tat gtg cag agg aat tat gat ctt tcc ttc tta aag 240
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65 70 75 80

acc atc cag gag gtg gct ggt tat gtc ctc att gcc ctc aac aca gtg 288
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95

gag cga att cct ttg gaa aac ctg cag atc atc aga gga aat atg tac 336
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
 100 105 110

tac gaa aat tcc tat gcc tta gca gtc tta tct aac tat gat gca aat 384
 Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
 115 120 125

aaa acc gga ctg aag gag ctg ccc atg aga aat tta cag gaa atc ctg 432
 Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130 135 140

cat ggc gcc gtg cgg ttc agc aac aac cct gcc ctg tgc aac gtg gag 480
 His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
 145 150 155 160

agc atc cag tgg cgg gac ata gtc agc agt gac ttt ctc agc aac atg 528
 Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
 165 170 175

tcg atg gac ttc cag aac cac ctg ggc agc tgc caa aag tgt gat cca 576
 Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
 180 185 190

agc tgt ccc aat ggg agc tgc tgg ggt gca gga gag gag aac tgc cag 624
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
 195 200 205

aaa ctg acc aaa atc atc tgt gcc cag cag tgc tcc ggg cgc tgc cgt 672
 Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
 210 215 220

ggc aag tcc ccc agt gac tgc tgc cac aac cag tgt gct gca ggc tgc 720
 Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
 225 230 235 240

aca ggc ccc cgg gag agc gac tgc ctg gtc tgc cgc aaa ttc cga gac 768
 Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
 245 250 255

gaa gcc acg tgc aag gac acc tgc ccc cca ctc atg ctc tac aac ccc 816
 Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro

260 265 270
 acc acg tac cag atg gat gtg aac ccc gag ggc aaa tac agc ttt ggt 864
 Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275 280 285
 gcc acc tgc gtg aag aag tgt ccc cgt aat tat gtg gtg aca gat cac 912
 Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 290 295 300
 ggc tcg tgc gtc cga gcc tgt ggg gcc gac agc tat gag atg gag gaa 960
 Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
 305 310 315 320
 gac ggc gtc cgc aag tgt aag aag tgc gaa ggg cct tgc cgc aaa gtg 1008
 Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
 325 330 335
 tgt aac gga ata ggt att ggt gaa ttt aaa gac tca ctc tcc ata aat 1056
 Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
 340 345 350
 gct acg aat att aaa cac ttc aaa aac tgc acc tcc atc agt ggc gat 1104
 Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
 355 360 365
 ctc cac atc ctg ccg gtg gca ttt agg ggt gac tcc ttc aca cat act 1152
 Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
 370 375 380
 cct cct ctg gat cca cag gaa ctg gat att ctg aaa acc gta aag gaa 1200
 Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
 385 390 395 400
 atc aca ggg ttt ttg ctg att cag gct tgg cct gaa aac agg acg gac 1248
 Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
 405 410 415
 ctc cat gcc ttt gag aac cta gaa atc ata cgc ggc agg acc aag caa 1296
 Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
 420 425 430
 cat ggt cag ttt tct ctt gca gtc gtc agc ctg aac ata aca tcc ttg 1344
 His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
 435 440 445
 gga tta cgc tcc ctc aag gag ata agt gat gga gat gtg ata att tca 1392
 Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
 450 455 460
 gga aac aaa aat ttg tgc tat gca aat aca ata aac tgg aaa aaa ctg 1440
 Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
 465 470 475 480
 ttt ggg acc tcc ggt cag aaa acc aaa att ata agc aac aga ggt gaa 1488
 Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
 485 490 495
 aac agc tgc aag gcc aca ggc cag gtc tgc cat gcc ttg tgc tcc ccc 1536
 Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
 500 505 510
 gag ggc tgc tgg ggc ccg gag ccc agg gac tgc gtc tct tgc cgg aat 1584

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
 515 520 525
 gtc agc cga ggc agg gaa tgc gtg gac aag tgc aac ctt ctg gag ggt 1632
 Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
 530 535 540
 gag cca agg gag ttt gtg gag aac tct gag tgc ata cag tgc cac cca 1680
 Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
 545 550 555 560
 gag tgc ctg cct cag gcc atg aac atc acc tgc aca gga cgg gga cca 1728
 Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575
 gac aac tgt atc cag tgt gcc cac tac att gac ggc ccc cac tgc gtc 1776
 Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590
 aag acc tgc ccg gca gga gtc atg gga gaa aac aac acc ctg gtc tgg 1824
 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605
 aag tac gca gac gcc ggc cat gtg tgc cac ctg tgc cat cca aac tgc 1872
 Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
 610 615 620
 acc tac ggg cca gga aat gag agt ctc aaa gcc atg tta ttc tgc ctt 1920
 Thr Tyr Gly Pro Gly Asn Glu Ser Leu Lys Ala Met Leu Phe Cys Leu
 625 630 635 640
 tt aaa cta tca tcc tgt aat caa agt aat gat ggc agc gtg tcc cac 1968
 Phe Lys Leu Ser Ser Cys Asn Gln Ser Asn Asp Gly Ser Val Ser His
 645 650 655
 cag agc ggg agc cca gct gct cag gag tca tgc tta gga tgg atc cct 2016
 Gln Ser Gly Ser Pro Ala Ala Gln Glu Ser Cys Leu Gly Trp Ile Pro
 660 665 670
 tct ctt ctg ccg tca gag ttt cag ctg ggt tgg ggt gga tgc agc cac 2064
 Ser Leu Leu Pro Ser Glu Phe Gln Leu Gly Trp Gly Gly Cys Ser His
 675 680 685
 ctc cat gcc tgg cct tct gca tct gtg atc atc acg gcc tcc tcc tgc 2112
 Leu His Ala Trp Pro Ser Ala Ser Val Ile Ile Thr Ala Ser Ser Cys
 690 695 700
 cac tga 2118
 His
 705

<210> 6

<211> 705

<212> PRT

<213> 人(homo sapiens)

<400> 6

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
 260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
 305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
 325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
 340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
 355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
 370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
 385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
 405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
 420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
 435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
 450 455 460

Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
 465 470 475 480

Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
 485 490 495

Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
 22

500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
515 520 525Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
530 535 540Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
610 615 620Thr Tyr Gly Pro Gly Asn Glu Ser Leu Lys Ala Met Leu Phe Cys Leu
625 630 635 640Phe Lys Leu Ser Ser Cys Asn Gln Ser Asn Asp Gly Ser Val Ser His
645 650 655Gln Ser Gly Ser Pro Ala Ala Gln Glu Ser Cys Leu Gly Trp Ile Pro
660 665 670Ser Leu Leu Pro Ser Glu Phe Gln Leu Gly Trp Gly Gly Cys Ser His
675 680 685Leu His Ala Trp Pro Ser Ala Ser Val Ile Ile Thr Ala Ser Ser Cys
690 695 700His
705

<210> 7

<211> 1887

<212> DNA

<213> 人(homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1884)

<223>

<400> 7

atg cga ccc tcc ggg acg gcc ggg gca gcg ctg gcg ctg gct 48
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Ala Leu Leu Ala
 1 5 10 15

gcg ctg tgc ccg gcg agt cgg gct ctg gag gaa aag aaa gtt tgc caa 96
 Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

ggc acg agt aac aag ctg acg cag ttg ggc act ttt gaa gat cat ttt 144
 Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45

ctc agc ctg cag agg atg ttc aat aac tgt gag gtg gtc ctt ggg aat 192
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50 55 60

ttg gaa att acc tat gtg cag agg aat tat gat ctt tcc ttc tta aag 240
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65 70 75 80

acc atc cag gag gtg gct ggt tat gtc ctg att gcc ctg aac aca gtg 288
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95

gag cga att cct ttg gaa aac ctg cag atc atc aga gga aat atg tac 336
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
 100 105 110

tac gaa aat tcc tat gcc tta gca gtc tta tct aac tat gat gca aat 384
 Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
 115 120 125

aaa acc gga ctg aag gag ctg ccc atg aga aat tta cag gaa atc ctg 432
 Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130 135 140

cat ggc gcc gtg cgg ttc agc aac aac cct gcc ctg tgc aac gtg gag 480
 His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
 145 150 155 160

agc atc cag tgg cgg gac ata gtc agc agt gac ttt ctg agc aac atg 528
 Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
 165 170 175

tcg atg gac ttc cag aac cac ctg ggc agc tgc caa aag tgt gat cca 576
 Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
 180 185 190

agc tgt ccc aat ggg agc tgc tgg ggt gca gga gag gag aac tgc cag 624
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln

195	200	205	
aaa ctg acc aaa atc atc tgt gcc cag cag tgc tcc ggg cgc tgc cgt 672			
Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg			
210	215	220	
ggc aag tcc ccc agt gac tgc tgc cac aac cag tgt gct gca ggc tgc 720			
Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys			
225	230	235	240
aca ggc ccc cgg gag agc gac tgc ctg gtc tgc cgc aaa ttc cga gac 768			
Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp			
245	250	255	
gaa gcc acg tgc aag gac acc tgc ccc cca ctc atg ctc tac aac ccc 816			
Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro			
260	265	270	
acc acg tac cag atg gat gtg aac ccc gag ggc aaa tac agc ttt ggt 864			
Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly			
275	280	285	
gcc acc tgc gtg aag aag tgt ccc cgt aat tat gtg gtg aca gat cac 912			
Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His			
290	295	300	
ggc tgc tgc gtc cga gcc tgt ggg gcc gac agc tat gag atg gag gaa 960			
Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu			
305	310	315	320
gac ggc gtc cgc aag tgt aag aag tgc gaa ggg cct tgc cgc aaa gtg 1008			
Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val			
325	330	335	
tgt aac gga ata ggt att ggt gaa ttt aaa gac tca ctc tcc ata aat 1056			
Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn			
340	345	350	
gct acg aat att aaa cac ttc aaa aac tgc acc tcc atc agt ggc gat 1104			
Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp			
355	360	365	
ctc cac atc ctg ccg gtg gca ttt agg ggt gac tcc ttc aca cat act 1152			
Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr			
370	375	380	
cct cct ctg gat cca cag gaa ctg gat att ctg aaa acc gta aag gaa 1200			
Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu			
385	390	395	400
atc aca ggg ttt ttg ctg att cag gct tgg cct gaa aac agg acg gac 1248			
Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp			
405	410	415	
ctc cat gcc ttt gag aac cta gaa atc ata cgc ggc agg acc aag caa 1296			
Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln			
420	425	430	
cat ggt cag ttt tct ctt gca gtc gtc agc ctg aac ata aca tcc ttg 1344			
His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu			
435	440	445	
gga tta cgc tcc ctc aag gag ata agt gat gga gat gtg ata att tca 1392			

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
 450 455 460
 gga aac aaa aat ttg tgc tat gca aat aca ata aac tgg aaa aaa ctg 1440
 Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
 465 470 475 480
 ttt ggg acc tcc ggt cag aaa acc aaa att ata agc aac aga ggt gaa 1488
 Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
 485 490 495
 aac agc tgc aag gcc aca ggc cag gtc tgc cat gcc ttg tgc tcc ccc 1536
 Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
 500 505 510
 gag ggc tgc tgg ggc ccg gag ccc agg gac tgc gtc tct tgc cgg aat 1584
 Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
 515 520 525
 gtc agc cga ggc agg gaa tgc gtg gac aag tgc aac ctt ctg gag ggt 1632
 Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
 530 535 540
 gag cca agg gag ttt gtg gag aac tct gag tgc ata cag tgc cac cca 1680
 Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
 545 550 555 560
 gag tgc ctg cct cag gcc atg aac atc acc tgc aca gga cgg gga cca 1728
 Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575
 gac aac tgt atc cag tgt gcc cac tac att gac ggc ccc cac tgc gtc 1776
 Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590
 aag acc tgc ccg gca gga gtc atg gga gaa aac aac acc ctg gtc tgg 1824
 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605
 aag tac gca gac gcc ggc cat gtg tgc cac ctg tgc cat cca aac tgc 1872
 Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
 610 615 620
 acc tac ggg tcc taa 1887
 Thr Tyr Gly Ser
 625

<210> 8

<211> 628

<212> PRT

<213> 人(homo sapiens)

<400> 8

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
 1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460

Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480

Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
485 490 495

Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
28

515

520

525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
 530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
 545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
 610 615 620

Thr Tyr Gly Ser
 625

<210> 9

<211> 1218

<212> DNA

<213> 人(homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1215)

<223>

<400> 9

atg cga ccc tcc ggg acg gcc ggg gca gcg ctc ctg gcg ctg ctg gct 48
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
 1 5 10 15

gcg ctc tgc ccg gcg agt cgg gct ctg gag gaa aag aaa gtt tgc caa 96
 Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

ggc acg agt aac aag ctc acg cag ttg ggc act ttt gaa gat cat ttt 144
 Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45

ctc agc ctc cag agg atg ttc aat aac tgt gag gtg gtc ctt ggg aat 192
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50 55 60

ttg gaa att acc tat gtg cag agg aat tat gat ctt tcc ttc tta aag 240
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65 70 75 80

acc atc cag gag gtg gct ggt tat gtc ctc att gcc ctc aac aca gtg 288
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95

gag cga att cct ttg gaa aac ctg cag atc atc aga gga aat atg tac 336
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
 100 105 110

tac gaa aat tcc tat gcc tta gca gtc tta tct aac tat gat gca aat 384
 Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
 115 120 125

aaa acc gga ctg aag gag ctg ccc atg aga aat tta cag gaa atc ctg 432
 Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130 135 140

cat ggc gcc gtg cgg ttc agc aac aac cct gcc ctg tgc aac gtg gag 480
 His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
 145 150 155 160

agc atc cag tgg cgg gac ata gtc agc agt gac ttt ctc agc aac atg 528
 Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
 165 170 175

tcg atg gac ttc cag aac cac ctg ggc agc tgc caa aag tgt gat cca 576
 Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
 180 185 190

agc tgt ccc aat ggg agc tgc tgg ggt gca gga gag gag aac tgc cag 624
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
 195 200 205

aaa ctg acc aaa atc atc tgt gcc cag cag tgc tcc ggg cgc tgc cgt 672
 Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
 210 215 220

ggc aag tcc ccc agt gac tgc tgc cac aac cag tgt gct gca ggc tgc 720
 Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
 225 230 235 240

aca ggc ccc cgg gag agc gac tgc ctg gtc tgc cgc aaa ttc cga gac 768
 Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
 245 250 255

gaa gcc acg tgc aag gac acc tgc ccc cca ctc atg ctc tac aac ccc 816
 Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
 260 265 270

acc acg tac cag atg gat gtg aac ccc gag ggc aaa tac agc ttt ggt 864
 Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275 280 285

gcc acc tgc gtg aag aag tgt ccc cgt aat tat gtg gtg aca gat cac 912
 Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 30

```
<210> 10
<211> 405
<212> PRT
<213> 人(homo sapiens)
```

<400> 10

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
 340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
 355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
 370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
 385 390 395 400

Ile Thr Gly Leu Ser
 405

<210> 11

<211> 2829

<212> DNA

<213> 人(homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2826)

<223>

<400> 11

atg cga ccc tcc ggg acg gcc ggg gca gcg ctc ctg gcg ctg ctg gct 48
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Ala
 1 5 10 15

gcg ctc tgc ccg gcg agt cgg gct ctg gag gaa aag cgt aat tat gtg 96
 Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Arg Asn Tyr Val
 20 25 30

gtg aca gat cac ggc tgc gtc cga gcc tgt ggg gcc gac agc tat 144
 Val Thr Asp His Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr
 35 40 45

gag atg gag gaa gac ggc gtc cgc aag tgt aag aag tgc gaa ggg cct 192
 Glu Met Glu Glu Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro
 50 55 60

tgc cgc aaa gtg tgt aac gga ata ggt att ggt gaa ttt aaa gac tca 240
 Cys Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser
 65 70 75 80

ctc tcc ata aat gct acg aat att aaa cac ttc aaa aac tgc acc tcc 288
 33

Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser
 85 90 95
 atc agt ggc gat ctc cac atc ctg ccg gtg gca ttt agg ggt gac tcc 336
 Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser
 100 105 110
 ttc aca cat act cct cct ctg gat cca cag gaa ctg gat att ctg aaa 384
 Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys
 115 120 125
 acc gta aag gaa atc aca ggg ttt ttg ctg att cag gct tgg cct gaa 432
 Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu
 130 135 140
 aac agg acg gac ctc cat gcc ttt gag aac cta gaa atc ata cgc ggc 480
 Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly
 145 150 155 160
 agg acc aag caa cat ggt cag ttt tct ctt gca gtc gtc agc ctg aac 528
 Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn
 165 170 175
 ata aca tcc ttg gga tta cgc tcc ctc aag gag ata agt gat gga gat 576
 Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp
 180 185 190
 gtg ata att tca gga aac aaa aat ttg tgc tat gca aat aca ata aac 624
 Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn
 195 200 205
 tgg aaa aaa ctg ttt ggg acc tcc ggt cag aaa acc aaa att ata agc 672
 Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser
 210 215 220
 aac aga ggt gaa aac agc tgc aag gcc aca ggc cag gtc tgc cat gcc 720
 Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala
 225 230 235 240
 ttg tgc tcc ccc gag ggc tgc tgg ggc ccg gag ccc agg gac tgc gtc 768
 Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val
 245 250 255
 tct tgc cgg aat gtc agc cga ggc agg gaa tgc gtg gac aag tgc aac 816
 Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn
 260 265 270
 ctt ctg gag ggt gag cca agg gag ttt gtg gag aac tct gag tgc ata 864
 Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile
 275 280 285
 cag tgc cac cca gag tgc ctg cct cag gcc atg aac atc acc tgc aca 912
 Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr
 290 295 300
 gga cgg gga cca gac aac tgt atc cag tgt gcc cac tac att gac ggc 960
 Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly
 305 310 315 320
 ccc cac tgc gtc aag acc tgc ccg gca gga gtc atg gga gaa aac aac 1008
 Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn
 325 330 335

acc ctg gtc tgg aag tac gca gac gcc ggc cat gtg tgc cac ctg tgc 1056
 Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys
 340 345 350

cat cca aac tgc acc tac gga tgc act ggg cca ggt ctt gaa ggc tgt 1104
 His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys
 355 360 365

cca acg aat ggg cct aag atc ccg tcc atc gcc act ggg atg gtg ggg 1152
 Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly
 370 375 380

gcc ctc ctc ttg ctg ctg gtg gtg gcc ctg ggg atc ggc ctc ttc atg 1200
 Ala Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met
 385 390 395 400

cga agg cgc cac atc gtt cgg aag cgc acg ctg cgg agg ctg ctg cag 1248
 Arg Arg Arg His Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln
 405 410 415

gag agg gag ctt gtg gag cct ctt aca ccc agt gga gaa gct ccc aac 1296
 Glu Arg Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn
 420 425 430

caa gct ctc ttg agg atc ttg aag gaa act gaa ttc aaa aag atc aaa 1344
 Gln Ala Leu Leu Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys
 435 440 445

gtg ctg ggc tcc ggt gcg ttc ggc acg gtg tat aag gga ctc tgg atc 1392
 Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile
 450 455 460

cca gaa ggt gag aaa gtt aaa att ccc gtc gct atc aag gaa tta aga 1440
 Pro Glu Gly Glu Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg
 465 470 475 480

gaa gca aca tct ccg aaa gcc aac aag gaa atc ctc gat gaa gcc tac 1488
 Glu Ala Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr
 485 490 495

gtg atg gcc agc gtg gac aac ccc cac gtg tgc cgc ctg ctg ggc atc 1536
 Val Met Ala Ser Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile
 500 505 510

tgc ctc acc tcc acc gtg cag ctc atc acg cag ctc atg ccc ttc ggc 1584
 Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly
 515 520 525

tgc ctc ctg gac tat gtc cgg gaa cac aaa gac aat att ggc tcc cag 1632
 Cys Leu Leu Asp Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln
 530 535 540

tac ctg ctc aac tgg tgt gtg cag atc gca aag ggc atg aac tac ttg 1680
 Tyr Leu Leu Asn Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu
 545 550 555 560

gag gac cgt cgc ttg gtg cac cgc gac ctg gca gcc agg aac gta ctg 1728
 Glu Asp Arg Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu
 565 570 575

gtg aaa aca ccg cag cat gtc aag atc aca gat ttt ggg ctg gcc aaa 1776
 Val Lys Thr Pro Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys
 580 585 590

ctg ctg ggt gcg gaa gag aaa gaa tac cat gca gaa gga ggc aaa gtg 1824
 Leu Leu Gly Ala Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val
 595 600 605

cct atc aag tgg atg gca ttg gaa tca att tta cac aga atc tat acc 1872
 Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr
 610 615 620

cac cag agt gat gtc tgg agc tac ggg gtg acc gtt tgg gag ttg atg 1920
 His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met
 625 630 635 640

acc ttt gga tcc aag cca tat gac gga atc cct gcc agc gag atc tcc 1968
 Thr Phe Gly Ser Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser
 645 650 655

tcc atc ctg gag aaa gga gaa cgc ctc cct cag cca ccc ata tgt acc 2016
 Ser Ile Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr
 660 665 670

atc gat gtc tac atg atc atg gtc aag tgc tgg atg ata gac gca gat 2064
 Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp
 675 680 685

agt cgc cca aag ttc cgt gag ttg atc atc gaa ttc tcc aaa atg gcc 2112
 Ser Arg Pro Lys Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala
 690 695 700

cga gac ccc cag cgc tac ctt gtc att cag ggg gat gaa aga atg cat 2160
 Arg Asp Pro Gln Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His
 705 710 715 720

ttg cca agt cct aca gac tcc aac ttc tac cgt gcc ctg atg gat gaa 2208
 Leu Pro Ser Pro Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu
 725 730 735

gaa gac atg gac gac gtg gtg gat gcc gac gag tac ctc atc cca cag 2256
 Glu Asp Met Asp Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln
 740 745 750

cag ggc ttc ttc agc agc ccc tcc acg tca cgg act ccc ctc ctg agc 2304
 Gln Gly Phe Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser
 755 760 765

tct ctg agt gca acc agc aac aat tcc acc gtg gct tgc att gat aga 2352
 Ser Leu Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg
 770 775 780

aat ggg ctg caa agc tgt ccc atc aag gaa gac agc ttc ttg cag cga 2400
 Asn Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg
 785 790 795 800

tac agc tca gac ccc aca ggc gcc ttg act gag gac agc ata gac gac 2448
 Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp Asp
 805 810 815

acc ttc ctc cca gtg cct gaa tac ata aac cag tcc gtt ccc aaa agg 2496
 Thr Phe Leu Pro Val Pro Gly Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro Lys Arg
 820 825 830

ccc gct ggc tct gtg cag aat cct gtc tat cac aat cag cct ctg aac 2544
 Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln Pro Leu Asn

835 840 845

ccc gcg ccc agc aga gac cca cac tac cag gac ccc cac agc act gca 2592
 Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro His Ser Thr Ala
 850 855 860

gtg ggc aac ccc gag tat ctc aac act gtc cag ccc acc tgt gtc aac 2640
 Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln Pro Thr Cys Val Asn
 865 870 875 880

agc aca ttc gac agc cct gcc cac tgg gcc cag aaa ggc agc cac caa 2688
 Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala Gln Lys Gly Ser His Gln
 885 890 895

att agc ctg gac aac cct gac tac cag cag gac ttc ttt ccc aag gaa 2736
 Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu
 900 905 910

gcc aag cca aat ggc atc ttt aag ggc tcc aca gct gaa aat gca gaa 2784
 Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu
 915 920 925

tac cta agg gtc gcg cca caa agc agt gaa ttt att gga gca tga 2829
 Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
 930 935 940

<210> 12

<211> 942

<212> PRT

<213> 人(homo sapiens)

<400> 12

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Ala
 1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Arg Asn Tyr Val
 20 25 30

Val Thr Asp His Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr
 35 40 45

Glu Met Glu Glu Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro
 50 55 60

Cys Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser
 65 70 75 80

Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser
 85 90 95

Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser
 100 105 110

Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys
 115 120 125

Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu
 130 135 140

Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly
 145 150 155 160

Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn
 165 170 175

Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp
 180 185 190

Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn
 195 200 205

Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser
 210 215 220

Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala
 225 230 235 240

Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val
 245 250 255

Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn
 260 265 270

Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile
 275 280 285

Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr
 290 295 300

Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly
 305 310 315 320

Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn
 325 330 335

Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys
 340 345 350

His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys
355 360 365

Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly
370 375 380

Ala Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met
385 390 395 400

Arg Arg Arg His Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln
405 410 415

Glu Arg Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn
420 425 430

Gln Ala Leu Leu Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys
435 440 445

Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile
450 455 460

Pro Glu Gly Glu Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg
465 470 475 480

Glu Ala Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr
485 490 495

Val Met Ala Ser Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile
500 505 510

Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly
515 520 525

Cys Leu Leu Asp Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln
530 535 540

Tyr Leu Leu Asn Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu
545 550 555 560

Glu Asp Arg Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu
565 570 575

Val Lys Thr Pro Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys
580 585 590

Leu Leu Gly Ala Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val
595 600 605

Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr
610 615 620

His Gln Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met
625 630 635 640

Thr Phe Gly Ser Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser
645 650 655

Ser Ile Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr
660 665 670

Ile Asp Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp
675 680 685

Ser Arg Pro Lys Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala
690 695 700

Arg Asp Pro Gln Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His
705 710 715 720

Leu Pro Ser Pro Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu
725 730 735

Glu Asp Met Asp Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln
740 745 750

Gln Gly Phe Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser
755 760 765

Ser Leu Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg
770 775 780

Asn Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg
785 790 795 800

Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp Asp
805 810 815

Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro Lys Arg
820 825 830

Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln Pro Leu Asn
835 840 845

Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro His Ser Thr Ala
40

850 855 860

Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Val Gln Pro Thr Cys Val Asn
 865 870 875 880

Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala Gln Lys Gly Ser His Gln
 885 890 895

Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu
 900 905 910

Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu
 915 920 925

Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
 930 935 940

<210> 13

<211> 3633

<212> DNA

<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(3630)

<223>

<400> 13

atg cga ccc tca ggg acc gcg aga acc aca ctg ctg gtg ctg ctg acc 48
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Arg Thr Thr Leu Leu Val Leu Leu Thr
 1 5 10 15

gcg ctc tgc gcc gca ggt ggg gcg ttg gag gaa aag aaa gtc tgc caa 96
 Ala Leu Cys Ala Ala Gly Gly Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

ggc aca agt aac agg ctc acc caa ctg ggc act ttt gaa gac cac ttt 144
 Gly Thr Ser Asn Arg Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45

ctg agc ctg cag agg atg tac aac aac tgt gaa gtg gtc ctt ggg aac 192
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50 55 60

ttg gaa att acc tat gtg caa agg aat tac gac ctt tcc ttc tta aag 240
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65 70 75 80

acc atc cag gag gtg gcc ggc tat gtc ctc att gcc ctc aac acc gtg 288
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95

gag aga atc cct ttg gag aac ctg cag atc atc agg gga aat gct ctt 336
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Ala Leu
 100 105 110

tat gaa aac acc tat gcc tta gcc atc ctg tcc aac tat ggg aca aac 384
 Tyr Glu Asn Thr Tyr Ala Leu Ala Ile Leu Ser Asn Tyr Gly Thr Asn
 115 120 125

aga act ggg ctt agg gaa ctg ccc atg cgg aac tta cag gaa atc ctg 432
 Arg Thr Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130 135 140

att ggt gct gtg cga ttc agc aac aac ccc atc ctc tgc aat atg gat 480
 Ile Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ile Leu Cys Asn Met Asp
 145 150 155 160

act atc cag tgg agg gac atc gtc caa aac gtc ttt atg agc aac atg 528
 Thr Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Gln Asn Val Phe Met Ser Asn Met
 165 170 175

tca atg gac tta cag agc cat ccg agc agt tgc ccc aaa tgt gat cca 576
 Ser Met Asp Leu Gln Ser His Pro Ser Ser Cys Pro Lys Cys Asp Pro
 180 185 190

agc tgt ccc aat gga agc tgc tgg gga gga gag gag aac tgc cag 624
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Gly Gly Glu Glu Asn Cys Gln
 195 200 205

aaa ttg acc aaa atc atc tgt gcc cag caa tgt tcc cat cgc tgt cgt 672
 Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser His Arg Cys Arg
 210 215 220

ggc agg tcc ccc agt gac tgc tgc cac aac caa tgt gct gcg ggg tgt 720
 Gly Arg Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
 225 230 235 240

aca ggg ccc cga gag agt gac tgt ctg gtc tgc caa aag ttc caa gat 768
 Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Gln Lys Phe Gln Asp
 245 250 255

gag gcc aca tgc aaa gac acc tgc cca cca ctc atg ctg tac aac ccc 816
 Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
 260 265 270

acc acc tat cag atg gat gtc aac cct gaa ggg aag tac agc ttt ggt 864
 Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275 280 285

gcc acc tgt gtg aag aag tgc ccc cga aac tac gtg gtg aca gat cat 912
 Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 290 295 300

ggc tca tgt gtc cga gcc tgt ggg cct gac tac tac gaa gtg gaa gaa 960
 Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Pro Asp Tyr Tyr Glu Val Glu Glu
 305 310 315 320

gat ggc atc cgc aag tgt aaa aaa tgt gat ggg ccc tgt cgc aaa gtt 1008
 Asp Gly Ile Arg Lys Cys Lys Lys Cys Asp Gly Pro Cys Arg Lys Val
 42

43

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590
 aag acc tgc cca gct ggc atc atg gga gag aac aac act ctg gtc tgg 1824
 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Ile Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605
 aag tat gca gat gcc aat aat gtc tgc cac cta tgc cac gcc aac tgt 1872
 Lys Tyr Ala Asp Ala Asn Asn Val Cys His Leu Cys His Ala Asn Cys
 610 615 620
 acc tat gga tgt gct ggg cca ggt ctt caa gga tgt gaa gtg tgg cca 1920
 Thr Tyr Gly Cys Ala Gly Pro Gly Leu Gln Gly Cys Glu Val Trp Pro
 625 630 635 640
 tct ggg cca aag ata cca tct att gcc act ggg att gtg ggt ggc ctc 1968
 Ser Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Ile Val Gly Gly Leu
 645 650 655
 ctc ttc ata gtg gtg gtg gcc ctt ggg att ggc cta ttc atg cga aga 2016
 Leu Phe Ile Val Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg
 660 665 670
 cgt cac att gtt cga aag cgt aca cta cgc cgc ctg ctt caa gag aga 2064
 Arg His Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg
 675 680 685
 gag ctc gtg gaa cct ctc aca ccc agc gga gaa gct cca aac caa gcc 2112
 Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala
 690 695 700
 cac ttg agg ata tta aag gaa aca gaa ttc aaa aag atc aaa gtt ctg 2160
 His Leu Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu
 705 710 715 720
 ggt tcg gga gca ttt ggc aca gtg tat aag ggt ctc tgg atc cca gaa 2208
 Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu
 725 730 735
 ggt gag aaa gta aaa atc ccg gtg gcc atc aag gag tta aga gaa gcc 2256
 Gly Glu Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala
 740 745 750
 aca tct cca aaa gcc aac aaa gaa atc ctt gac gaa gcc tat gtg atg 2304
 Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met
 755 760 765
 gct agt gtg gac aac cct cat gta tgc cgc ctc ctg ggc atc tgt ctg 2352
 Ala Ser Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu
 770 775 780
 acc tcc act gtc cag ctc att aca cag ctc atg ccc tac ggt tgc ctc 2400
 Thr Ser Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Tyr Gly Cys Leu
 785 790 795 800
 ctg gac tac gtc cga gaa cac aag gac aac att ggc tcc cag tac ctc 2448
 Leu Asp Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu
 805 810 815
 ctc aac tgg tgt gtg cag att gca aag ggc atg aac tac ctg gaa gat 2496
 Leu Asn Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp
 820 825 830

cgg cgt ttg gtg cac cgt gac ttg gca gcc agg aat gta ctg gtg aag 2544
 Arg Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Arg Asn Val Leu Val Lys
 835 840 845

aca cca cag cat gtc aag atc aca gat ttt ggg ctg gcc aaa ctg ctt 2592
 Thr Pro Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu
 850 855 860

ggt gct gaa gag aaa gaa tat cat gcc gag ggg ggc aaa gtg cct atc 2640
 Gly Ala Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile
 865 870 875 880

aag tgg atg gct ttg gaa tca att tta cac cga att tat aca cac caa 2688
 Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln
 885 890 895

agt gat gtc tgg agc tat ggt gtc act gtg tgg gaa ctg atg acc ttt 2736
 Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe
 900 905 910

ggg tcc aag cct tat gat gga atc cca gca agt gac atc tca tcc atc 2784
 Gly Ser Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Asp Ile Ser Ser Ile
 915 920 925

cta gag aaa gga gaa cgc ctt cca cag cca cct atc tgc acc atc gat 2832
 Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp
 930 935 940

gtc tac atg atc atg gtc aag tgc tgg atg ata gat gct gat agc cgc 2880
 Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg
 945 950 955 960

cca aag ttc cga gag ttg att ctt gaa ttc tcc aaa atg gcc cga gac 2928
 Pro Lys Phe Arg Glu Leu Ile Leu Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp
 965 970 975

cca cag cgc tac ctt gtt atc cag ggg gat gaa aga atg cat ttg cca 2976
 Pro Gln Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro
 980 985 990

agc cct aca gac tcc aac ttt tac cga gcc ctg atg gat gaa gag gac 3024
 Ser Pro Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp
 995 1000 1005

atg gag gat gta gtt gat gct gat gag tat ctt acc cca cag caa 3069
 Met Glu Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Thr Pro Gln Gln
 1010 1015 1020

ggc ttc ttc aac agc ccg tcc acg tcg agg act ccc ctc ttg agt 3114
 Gly Phe Phe Asn Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser
 1025 1030 1035

tct ctg agt gca act agc aac aat tcc act gtg gct tgc att aat 3159
 Ser Leu Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asn
 1040 1045 1050

aga aat ggg agc tgc cgt gtc aaa gaa gac gcc ttc ttg cag cgg 3204
 Arg Asn Gly Ser Cys Arg Val Lys Glu Asp Ala Phe Leu Gln Arg
 1055 1060 1065

tac agc tcc gac ccc aca ggt gct gta aca gag gac aac ata gat 3249
 Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Val Thr Glu Asp Asn Ile Asp
 1070 1075 1080

gac gca ttc ctc cct gta cct gaa tat gta aac caa tct gtt ccc 3294
 Asp Ala Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Val Asn Gln Ser Val Pro
 1085 1090 1095

aag agg cca gca ggc tct gtg cag aac cct gtc tat cac aat cag 3339
 Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln
 1100 1105 1110

ccc ctg cat cca gct cct gga aga gac ctg cat tat caa aat ccc 3384
 Pro Leu His Pro Ala Pro Gly Arg Asp Leu His Tyr Gln Asn Pro
 1115 1120 1125

cac agc aat gca gtg ggc aac cct gag tat ctc aac act gcc cag 3429
 His Ser Asn Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Ala Gln
 1130 1135 1140

cct acc tgt ctc agt agt ggg ttt aac agc cct gca ctc tgg atc 3474
 Pro Thr Cys Leu Ser Ser Gly Phe Asn Ser Pro Ala Leu Trp Ile
 1145 1150 1155

cag aaa ggc agt cac caa atg agc cta gac aac cct gac tac cag 3519
 Gln Lys Gly Ser His Gln Met Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
 1160 1165 1170

cag gac ttc ttc ccc aag gaa acc aag cca aat ggc ata ttt aag 3564
 Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Thr Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
 1175 1180 1185

ggc ccc aca gct gaa aat gca gag tac cta cgg gtg gca cct cca 3609
 Gly Pro Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Pro
 1190 1195 1200

agc agc gag ttt att gga gca tga 3633
 Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
 1205 1210

<210> 14

<211> 1210

<212> PRT

<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 14

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Arg Thr Thr Leu Val Leu Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Leu Cys Ala Ala Gly Gly Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

Gly Thr Ser Asn Arg Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 46

50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Ala Leu
100 105 110

Tyr Glu Asn Thr Tyr Ala Leu Ala Ile Leu Ser Asn Tyr Gly Thr Asn
115 120 125

Arg Thr Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

Ile Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ile Leu Cys Asn Met Asp
145 150 155 160

Thr Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Gln Asn Val Phe Met Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Leu Gln Ser His Pro Ser Ser Cys Pro Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Gly Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser His Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Arg Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Gln Lys Phe Gln Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Pro Asp Tyr Tyr Glu Val Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Ile Arg Lys Cys Lys Lys Cys Asp Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Thr Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Tyr Cys Thr Ala Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Lys Gly Asp Ser Phe Thr Arg Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Arg Glu Leu Glu Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Asp Asn Trp Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Gly Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460

Gly Asn Arg Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480

Phe Gly Thr Pro Asn Gln Lys Thr Lys Ile Met Asn Asn Arg Ala Glu
485 490 495

Lys Asp Cys Lys Ala Val Asn His Val Cys Asn Pro Leu Cys Ser Ser
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Gln Asn
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Glu Lys Cys Asn Ile Leu Glu Gly
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Ile Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Asn Asn Val Cys His Leu Cys His Ala Asn Cys
610 615 620

Thr Tyr Gly Cys Ala Gly Pro Gly Leu Gln Gly Cys Glu Val Trp Pro
625 630 635 640

Ser Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Ile Val Gly Gly Leu
645 650 655

Leu Phe Ile Val Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg
660 665 670

Arg His Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg
675 680 685

Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala
690 695 700

His Leu Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu
705 710 715 720

Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu
725 730 735

Gly Glu Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala
740 745 750

Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met
755 760 765

Ala Ser Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu
770 775 780

Thr Ser Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Tyr Gly Cys Leu
785 790 795 800

Leu Asp Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu
805 810 815

Leu Asn Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp
820 825 830

Arg Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys
835 840 845

Thr Pro Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu
850 855 860

Gly Ala Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile
865 870 875 880

Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln
885 890 895

Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe
900 905 910

Gly Ser Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Asp Ile Ser Ser Ile
915 920 925

Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp
930 935 940

Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg
945 950 955 960

Pro Lys Phe Arg Glu Leu Ile Leu Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp
965 970 975

Pro Gln Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro
980 985 990

Ser Pro Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp
995 1000 1005

Met Glu Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Thr Pro Gln Gln
1010 1015 1020

Gly Phe Phe Asn Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser
1025 1030 1035

Ser Leu Ser Ala Thr Ser Asn Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asn
1040 1045 1050

Arg Asn Gly Ser Cys Arg Val Lys Glu Asp Ala Phe Leu Gln Arg
50

1055 1060 1065

Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly Ala Val Thr Glu Asp Asn Ile Asp
1070 1075 1080

Asp Ala Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Val Asn Gln Ser Val Pro
1085 1090 1095

Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln
1100 1105 1110

Pro Leu His Pro Ala Pro Gly Arg Asp Leu His Tyr Gln Asn Pro
1115 1120 1125

His Ser Asn Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu Asn Thr Ala Gln
1130 1135 1140

Pro Thr Cys Leu Ser Ser Gly Phe Asn Ser Pro Ala Leu Trp Ile
1145 1150 1155

Gln Lys Gly Ser His Gln Met Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
1160 1165 1170

Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Thr Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
1175 1180 1185

Gly Pro Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Pro
1190 1195 1200

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
1205 1210

<210> 15

<211> 1932

<212> DNA

<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1929)

<223>

<400> 15
 atg cga ccc tca ggg acc gcg aga acc aca ctg ctg gtg ctg ctg acc 48
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Arg Thr Thr Leu Leu Val Leu Leu Thr
 1 5 10 15
 gcg ctc tgc gcc gca ggt ggg gcg ttg gag gaa aag aaa gtc tgc caa 96
 Ala Leu Cys Ala Ala Gly Gly Ala Leu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30
 ggc aca agt aac agg ctc acc caa ctg ggc act ttt gaa gac cac ttt 144
 Gly Thr Ser Asn Arg Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45
 ctg agc ctg cag agg atg tac aac aac tgt gaa gtg gtc ctt ggg aac 192
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50 55 60
 ttg gaa att acc tat gtg caa agg aat tac gac ctt tcc ttc tta aag 240
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65 70 75 80
 acc atc cag gag gtg gcc ggc tat gtc ctc att gcc ctc aac acc gtg 288
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95
 gag aga atc cct ttg gag aac ctg cag atc atc agg gga aat gct ctt 336
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Ala Leu
 100 105 110
 tat gaa aac acc tat gcc tta gcc atc ctg tcc aac tat ggg aca aac 384
 Tyr Glu Asn Thr Tyr Ala Leu Ala Ile Leu Ser Asn Tyr Gly Thr Asn
 115 120 125
 aga act ggg ctt agg gaa ctg ccc atg cgg aac tta cag gaa atc ctg 432
 Arg Thr Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130 135 140
 att ggt gct gtg cga ttc agc aac aac ccc atc ctc tgc aat atg gat 480
 Ile Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ile Leu Cys Asn Met Asp
 145 150 155 160
 act atc cag tgg agg gac atc gtc caa aac gtc ttt atg agc aac atg 528
 Thr Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Gln Asn Val Phe Met Ser Asn Met
 165 170 175
 tca atg gac tta cag agc cat ccg agc agt tgc ccc aaa tgt gat cca 576
 Ser Met Asp Leu Gln Ser His Pro Ser Ser Cys Pro Lys Cys Asp Pro
 180 185 190
 agc tgt ccc aat gga agc tgc tgg gga gga gag gag aac tgc cag 624
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Gly Gly Glu Glu Asn Cys Gln
 195 200 205
 aaa ttg acc aaa atc atc tgt gcc cag caa tgt tcc cat cgc tgt cgt 672
 Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser His Arg Cys Arg
 210 215 220
 ggc agg tcc ccc agt gac tgc tgc cac aac caa tgt gct gcg ggg tgt 720
 Gly Arg Ser Pro Ser Asp Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
 225 230 235 240
 aca ggg ccc cga gag agt gac tgt ctg gtc tgc caa aag ttc caa gat 768
 Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Gln Lys Phe Gln Asp
 52

245 250 255
 gag gcc aca tgc aaa gac acc tgc cca cca ctc atg ctg tac aac ccc 816
 Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
 260 265 270
 acc acc tat cag atg gat gtc aac cct gaa ggg aag tac agc ttt ggt 864
 Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275 280 285
 gcc acc tgt gtg aag aag tgc ccc cga aac tac gtg gtg aca gat cat 912
 Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 290 295 300
 ggc tca tgt gtc cga gcc tgt ggg cct gac tac tac gaa gtg gaa gaa 960
 Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Pro Asp Tyr Tyr Glu Val Glu Glu
 305 310 315 320
 gat ggc atc cgc aag tgt aaa aaa tgt gat ggg ccc tgt cgc aaa gtt 1008
 Asp Gly Ile Arg Lys Cys Lys Lys Cys Asp Gly Pro Cys Arg Lys Val
 325 330 335
 tgt aat ggc ata ggc att ggt gaa ttt aaa gac aca ctc tcc ata aat 1056
 Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Thr Leu Ser Ile Asn
 340 345 350
 gct aca aac atc aaa cac ttc aaa tac tgc act gcc atc agc ggg gac 1104
 Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Tyr Cys Thr Ala Ile Ser Gly Asp
 355 360 365
 ctt cac atc ctg cca gtg gcc ttt aag ggg gat tct ttc acg cgc act 1152
 Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Lys Gly Asp Ser Phe Thr Arg Thr
 370 375 380
 cct cct cta gac cca cga gaa cta gaa att cta aaa acc gta aag gaa 1200
 Pro Pro Leu Asp Pro Arg Glu Leu Glu Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
 385 390 395 400
 ata aca ggc ttt ttg ctg att cag gct tgg cct gat aac tgg act gac 1248
 Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Asp Asn Trp Thr Asp
 405 410 415
 ctc cat gct ttc gag aac cta gaa ata ata cgt ggc aga aca aag caa 1296
 Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
 420 425 430
 cat ggt cag ttt tct ttg gcg gtc gtt ggc ctg aac atc aca tca ctg 1344
 His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Gly Leu Asn Ile Thr Ser Leu
 435 440 445
 ggg ctg cgt tcc ctc aag gag atc agt gat ggg gat gtg atc att tct 1392
 Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
 450 455 460
 gga aac cga aat ttg tgc tac gca aac aca ata aac tgg aaa aaa ctc 1440
 Gly Asn Arg Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
 465 470 475 480
 ttc ggg aca ccc aat cag aaa acc aaa atc atg aac aac aga gct gag 1488
 Phe Gly Thr Pro Asn Gln Lys Thr Lys Ile Met Asn Asn Arg Ala Glu
 485 490 495
 aaa gac tgc aag gcc gtg aac cac gtc tgc aat cct tta tgc tcc tcg 1536

Lys Asp Cys Lys Ala Val Asn His Val Cys Asn Pro Leu Cys Ser Ser
500 505 510

gaa ggc tgc tgg ggc cct gag ccc agg gac tgt gtc tcc tgc cag aat 1584
Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Gln Asn
515 520 525

gtg agc aga ggc agg gag tgc gtg gag aaa tgc aac atc ctg gag ggg 1632
Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Glu Lys Cys Asn Ile Leu Glu Gly
530 535 540

gaa cca agg gag ttt gtg gaa aat tct gaa tgc atc cag tgc cat cca 1680
Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560

gaa tgt ctg ccc cag gcc atg aac atc acc tgt aca ggc agg ggg cca 1728
Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

gac aac tgc atc cag tgt gcc cac tac att gat ggc cca cac tgt gtc 1776
Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590

aag acc tgc cca gct ggc atc atg gga gag aac aac act ctg gtc tgg 1824
Lys Thr Cys Pro Ala Gly Ile Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605

aag tat gca gat gcc aat aat gtc tgc cac cta tgc cac gcc aac tgt 1872
Lys Tyr Ala Asp Ala Asn Asn Val Cys His Leu Cys His Ala Asn Cys
610 615 620

acc tat gga gta atg gtt cct gaa atg ttg ctc caa agt atc att tta 1920
Thr Tyr Gly Val Met Val Pro Glu Met Leu Leu Gln Ser Ile Ile Leu
625 630 635 640

aaa cct att tga 1932
Lys Pro Ile

<210> 16

<211> 643

<212> PRT

<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 16

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Arg Thr Thr Leu Leu Val Leu Leu Thr
1 5 10 15

Ala Leu Cys Ala Ala Gly Gly Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30

Gly Thr Ser Asn Arg Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Ala Leu
100 105 110

Tyr Glu Asn Thr Tyr Ala Leu Ala Ile Leu Ser Asn Tyr Gly Thr Asn
115 120 125

Arg Thr Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

Ile Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ile Leu Cys Asn Met Asp
145 150 155 160

Thr Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Gln Asn Val Phe Met Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Leu Gln Ser His Pro Ser Ser Cys Pro Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Gly Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser His Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Arg Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Gln Lys Phe Gln Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Pro Asp Tyr Tyr Glu Val Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Ile Arg Lys Cys Lys Lys Cys Asp Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Thr Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Tyr Cys Thr Ala Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Lys Gly Asp Ser Phe Thr Arg Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Arg Glu Leu Glu Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Asp Asn Trp Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Gly Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460

Gly Asn Arg Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480

Phe Gly Thr Pro Asn Gln Lys Thr Lys Ile Met Asn Asn Arg Ala Glu
485 490 495

Lys Asp Cys Lys Ala Val Asn His Val Cys Asn Pro Leu Cys Ser Ser
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Gln Asn
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Glu Lys Cys Asn Ile Leu Glu Gly
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
55

545 550 555 560
 Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Ile Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Asn Asn Val Cys His Leu Cys His Ala Asn Cys
 610 615 620

Thr Tyr Gly Val Met Val Pro Glu Met Leu Leu Gln Ser Ile Ile Leu
 625 630 635 640

Lys Pro Ile

<210> 17

<211> 1968

<212> DNA

<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1965)

<223>

<400> 17

atg cga ccc tca ggg acc gcg aga acc aca ctg ctg gtg ctg ctg acc 48
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Arg Thr Thr Leu Leu Val Leu Leu Thr
 1 5 10 15

gcg ctc tgc gcc gca ggt ggg gcg ttg gag gaa aag aaa gtc tgc caa 96
 Ala Leu Cys Ala Ala Gly Gly Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

ggc aca agt aac agg ctc acc caa ctg ggc act ttt gaa gac cac ttt 144
 Gly Thr Ser Asn Arg Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45

ctg agc ctg cag agg atg tac aac aac tgt gaa gtg gtc ctt ggg aac 192
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50 55 60

ttg gaa att acc tat gtg caa agg aat tac gac ctt tcc ttc tta aag 240
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65 70 75 80

acc atc cag gag gtg gcc ggc tat gtc ctc att gcc ctc aac acc gtg 288
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95

gag aga atc cct ttg gag aac ctg cag atc atc agg gga aat gct ctt 336
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Ala Leu
 100 105 110

tat gaa aac acc tat gcc tta gcc atc ctg tcc aac tat ggg aca aac 384
 Tyr Glu Asn Thr Tyr Ala Leu Ala Ile Leu Ser Asn Tyr Gly Thr Asn
 115 120 125

aga act ggg ctt agg gaa ctg ccc atg cgg aac tta cag gaa atc ctg 432
 Arg Thr Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130 135 140

att ggt gct gtg cga ttc agc aac aac ccc atc ctc tgc aat atg gat 480
 Ile Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ile Leu Cys Asn Met Asp
 145 150 155 160

act atc cag tgg agg gac atc gtc caa aac gtc ttt atg agc aac atg 528
 Thr Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Gln Asn Val Phe Met Ser Asn Met
 165 170 175

tca atg gac tta cag agc cat ccg agc agt tgc ccc aaa tgt gat cca 576
 Ser Met Asp Leu Gln Ser His Pro Ser Ser Cys Pro Lys Cys Asp Pro
 180 185 190

agc tgt ccc aat gga agc tgc tgg gga gga gag gag aac tgc cag 624
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Gly Gly Glu Glu Asn Cys Gln
 195 200 205

aaa ttg acc aaa atc atc tgt gcc cag caa tgt tcc cat cgc tgt cgt 672
 Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser His Arg Cys Arg
 210 215 220

ggc agg tcc ccc agt gac tgc tgc cac aac caa tgt gct gcg ggg tgt 720
 Gly Arg Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
 225 230 235 240

aca ggg ccc cga gag agt gac tgt ctg gtc tgc caa aag ttc caa gat 768
 Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Gln Lys Phe Gln Asp
 245 250 255

gag gcc aca tgc aaa gac acc tgc cca cca ctc atg ctg tac aac ccc 816
 Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
 260 265 270

acc acc tat cag atg gat gtc aac cct gaa ggg aag tac agc ttt ggt 864
 Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275 280 285

gcc acc tgt gtg aag aag tgc ccc cga aac tac gtg gtg aca gat cat 912
 Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 290 295 300

ggc tca tgt gtc cga gcc tgt ggg cct gac tac tac gaa gtg gaa gaa 960
 Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Pro Asp Tyr Tyr Glu Val Glu Glu
 58

59

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575

gac aac tgc atc cag tgt gcc cac tac att gat ggc cca cac tgt gtc 1776
 Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590

aag acc tgc cca gct ggc atc atg gga gag aac aac act ctg gtc tgg 1824
 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Ile Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605

aag tat gca gat gcc aat aat gtc tgc cac cta tgc cac gcc aac tgt 1872
 Lys Tyr Ala Asp Ala Asn Asn Val Cys His Leu Cys His Ala Asn Cys
 610 615 620

acc tat gga tgt gct ggg cca ggt ctt caa gga tgt gaa gtg tgg cca 1920
 Thr Tyr Gly Cys Ala Gly Pro Gly Leu Gln Gly Cys Glu Val Trp Pro
 625 630 635 640

tct ggg tac gtt caa tgg cag tgg atc tta aag acc ttt tgg atc taa 1968
 Ser Gly Tyr Val Gln Trp Gln Trp Ile Leu Lys Thr Phe Trp Ile
 645 650 655

<210> 18

<211> 655

<212> PRT

<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 18

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Arg Thr Thr Leu Leu Val Leu Leu Thr
 1 5 10 15

Ala Leu Cys Ala Ala Gly Gly Ala Leu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20 25 30

Gly Thr Ser Asn Arg Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Ala Leu
 100 105 110

Tyr Glu Asn Thr Tyr Ala Leu Ala Ile Leu Ser Asn Tyr Gly Thr Asn
115 120 125

Arg Thr Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

Ile Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ile Leu Cys Asn Met Asp
145 150 155 160

Thr Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Gln Asn Val Phe Met Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Leu Gln Ser His Pro Ser Ser Cys Pro Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Gly Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser His Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Arg Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Gln Lys Phe Gln Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Pro Asp Tyr Tyr Glu Val Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Ile Arg Lys Cys Lys Lys Cys Asp Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Thr Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Tyr Cys Thr Ala Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Lys Gly Asp Ser Phe Thr Arg Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Arg Glu Leu Glu Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Asp Asn Trp Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Gly Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460

Gly Asn Arg Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480

Phe Gly Thr Pro Asn Gln Lys Thr Lys Ile Met Asn Asn Arg Ala Glu
485 490 495

Lys Asp Cys Lys Ala Val Asn His Val Cys Asn Pro Leu Cys Ser Ser
500 505 510

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Gln Asn
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Glu Lys Cys Asn Ile Leu Glu Gly
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Ile Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Asn Asn Val Cys His Leu Cys His Ala Asn Cys
62

610

615

620

Thr Tyr Gly Cys Ala Gly Pro Gly Leu Gln Gly Cys Glu Val Trp Pro
 625 630 635 640

Ser Gly Tyr Val Gln Trp Gln Trp Ile Leu Lys Thr Phe Trp Ile
 645 650 655

<210> 19

<211> 1962

<212> DNA

<213> 鸡

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1962)

<223>

<400> 19

atg ggt gta cgc agc ccc ctg tcc gcc tct ggg cct cgc ggg gcc gct 48
 Met Gly Val Arg Ser Pro Leu Ser Ala Ser Gly Pro Arg Gly Ala Ala
 1 5 10 15

gtc ctg gtg cta ctg ctg ctg ggc gtc gcg ctg tgt tcc gcc gtg gag 96
 Val Leu Val Leu Leu Leu Gly Val Ala Leu Cys Ser Ala Val Glu
 20 25 30

gag aag aaa gtt tgt caa ggg aca aat aac aag ttg acc cag ctg ggg 144
 Glu Lys Lys Val Cys Gln Gly Thr Asn Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly
 35 40 45

cac gtg gaa gac cat ttc acc agc ctg cag aga atg tac aac aac tgc 192
 His Val Glu Asp His Phe Thr Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys
 50 55 60

gaa gtg gta ctg agt aac ctg gag att acc tac gtg gag cat aat cgc 240
 Glu Val Val Leu Ser Asn Leu Glu Ile Thr Tyr Val Glu His Asn Arg
 65 70 75 80

gat ctc acc ttc ctt aag acc ata cag gag gtt gca ggc tat gtg ctc 288
 Asp Leu Thr Phe Leu Lys Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu
 85 90 95

att gcg ctt aac atg gtg gac gtc att ccc tta gaa aac ctc cag att 336
 Ile Ala Leu Asn Met Val Asp Val Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile
 100 105 110

atc cga ggg aat gtg ctt tat gac aac tct ttt gcc ctg gca gtt tta 384
 Ile Arg Gly Asn Val Leu Tyr Asp Asn Ser Phe Ala Leu Ala Val Leu
 115 120 125

tcc aat tac cac atg aat aaa acc cag gga ctt cga gag ctg cca atg 432
 Ser Asn Tyr His Met Asn Lys Thr Gln Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met
 130 135 140

aaa cgg cta tca gaa att ctc aat gga ggt gtt aaa atc agc aac aac 480
 Lys Arg Leu Ser Glu Ile Leu Asn Gly Gly Val Lys Ile Ser Asn Asn
 145 150 155 160

ccc aaa ctg tgc aac atg gac act gtt ctc tgg aat gac atc att gat 528
 Pro Lys Leu Cys Asn Met Asp Thr Val Leu Trp Asn Asp Ile Ile Asp
 165 170 175

aca agc agg aag cct ctc aca gta ctt gac ttt gca agc aat ctt tct 576
 Thr Ser Arg Lys Pro Leu Thr Val Leu Asp Phe Ala Ser Asn Leu Ser
 180 185 190

tct tgt cca aaa tgc cat ccg aac tgc aca gaa gac cac tgc tgg ggt 624
 Ser Cys Pro Lys Cys His Pro Asn Cys Thr Glu Asp His Cys Trp Gly
 195 200 205

gct ggt gaa cag aac tgc cag act tta aca aaa gtc atc tgt gcc cag 672
 Ala Gly Glu Gln Asn Cys Gln Thr Leu Thr Lys Val Ile Cys Ala Gln
 210 215 220

caa tgc tct ggc cgg tgc aga gga aag gtg ccc agt gac tgc tgc cac 720
 Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg Gly Lys Val Pro Ser Asp Cys Cys His
 225 230 235 240

aat cag tgt gct gca ggg tgc aca gga cct cgg gag agt gac tgc ctg 768
 Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu
 245 250 255

gca tgc cgc aag ttt cgg gat gat gct acc tgc aag gac aca tgt ccc 816
 Ala Cys Arg Lys Phe Arg Asp Asp Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro
 260 265 270

cca ctg gtc ctc tat aac ccc acc acc tat caa atg gat gtc aac cct 864
 Pro Leu Val Leu Tyr Asn Pro Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro
 275 280 285

gag gga aaa tac agc ttt gga gcc act tgt gtg agg gaa tgt cca cac 912
 Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly Ala Thr Cys Val Arg Glu Cys Pro His
 290 295 300

aac tat gtg gtg aca gat cat ggc tcc tgc gtt cgc tcg tgt aat act 960
 Asn Tyr Val Val Thr Asp His Gly Ser Cys Val Arg Ser Cys Asn Thr
 305 310 315 320

gat act tac gaa gtg gaa gaa aat ggt gtt cgg aag tgt aaa aaa tgt 1008
 Asp Thr Tyr Glu Val Glu Glu Asn Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys
 325 330 335

gat ggg cta tgt agc aaa gtg tgc aat ggc att gga ata ggt gaa ctt 1056
 Asp Gly Leu Cys Ser Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Leu
 340 345 350

aaa ggg atc cta tcc ata aat gcc aca aac atc gac tcc ttc aaa aac 1104
 Lys Gly Ile Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Asp Ser Phe Lys Asn
 355 360 365

tgt acg aag atc aat ggg gat gtc agc att ctt cct gtt gca ttt cta 1152
 Cys Thr Lys Ile Asn Gly Asp Val Ser Ile Leu Pro Val Ala Phe Leu

370 375 380
 ggg gat gcc ttc aca aag aca cta ccc ctt gac cct aag aag ctg gat 1200
 Gly Asp Ala Phe Thr Lys Thr Leu Pro Leu Asp Pro Lys Lys Leu Asp
 385 390 395 400
 gtc ttt aga aca gtc aaa gaa ata tca gga ttt ttg ttg att cag gcc 1248
 Val Phe Arg Thr Val Lys Glu Ile Ser Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala
 405 410 415
 tgg cct gat aat gct act gat ctc tat gct ttt gaa aat ctg gag att 1296
 Trp Pro Asp Asn Ala Thr Asp Leu Tyr Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile
 420 425 430
 atc cga ggc cga acc aag cag cac ggc cag tat tcc ctt gct gtt gtt 1344
 Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Tyr Ser Leu Ala Val Val
 435 440 445
 aac ttg aaa ata cag tcg ttg ggg ctg cgc tcc ctc aag gaa ata agt 1392
 Asn Leu Lys Ile Gln Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser
 450 455 460
 gat gga gac att gcc att atg aag aac aag aac ctc tgc tat gct gac 1440
 Asp Gly Asp Ile Ala Ile Met Lys Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asp
 465 470 475 480
 acc atg aac tgg cgc agc ttg ttt gct act cag agt cag aaa aca aaa 1488
 Thr Met Asn Trp Arg Ser Leu Phe Ala Thr Gln Ser Gln Lys Thr Lys
 485 490 495
 att ata cag aac aga aat aaa aat gat tgt act gct gac agg cat gtg 1536
 Ile Ile Gln Asn Arg Asn Lys Asn Asp Cys Thr Ala Asp Arg His Val
 500 505 510
 tgt gac ccg ctg tgc tcg gac gtg ggc tgc tgg ggc cca ggg ccc ttc 1584
 Cys Asp Pro Leu Cys Ser Asp Val Gly Cys Trp Gly Pro Gly Pro Phe
 515 520 525
 cac tgc ttt tcc tgc agg ttt ttc agt cgc cag aag gag tgt gta aaa 1632
 His Cys Phe Ser Cys Arg Phe Phe Ser Arg Gln Lys Glu Cys Val Lys
 530 535 540
 cag tgc aac atc ctg caa ggg gag cca cgt gag ttt gaa aga gac tcc 1680
 Gln Cys Asn Ile Leu Gln Gly Glu Pro Arg Glu Phe Glu Arg Asp Ser
 545 550 555 560
 aaa tgc ctc ccc tgc cac tca gag tgt ctg gta cag aac tcc act gca 1728
 Lys Cys Leu Pro Cys His Ser Glu Cys Leu Val Gln Asn Ser Thr Ala
 565 570 575
 tac aac aca acc tgc tct gga ccg ggc cca gac cac tgc atg aag tgt 1776
 Tyr Asn Thr Thr Cys Ser Gly Pro Gly Pro Asp His Cys Met Lys Cys
 580 585 590
 gcc cat ttt ata gat ggt ccc cac tgt gtg aag gcc tgc ccc gct ggg 1824
 Ala His Phe Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Ala Cys Pro Ala Gly
 595 600 605
 gtc ctg ggt gag aat gat acc ctg gtc tgg aag tat gca gat gcc aat 1872
 Val Leu Gly Glu Asn Asp Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Asn
 610 615 620
 gct gtt tgc cag ctc tgc cat cca aac tgt aca cga ggg tgc aaa ggg 1920
 65

Ala Val Cys Gln Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Arg Gly Cys Lys Gly
625 630 635 640

cca ggt ctt gaa gga tgt cca aat ggc tcc aaa act cca tct 1962
Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Asn Gly Ser Lys Thr Pro Ser
645 650

<210> 20

<211> 654

<212> PRT

<213> 鸡

<400> 20

Met Gly Val Arg Ser Pro Leu Ser Ala Ser Gly Pro Arg Gly Ala Ala
1 5 10 15

Val Leu Val Leu Leu Leu Gly Val Ala Leu Cys Ser Ala Val Glu
20 25 30

Glu Lys Lys Val Cys Gln Gly Thr Asn Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly
35 40 45

His Val Glu Asp His Phe Thr Ser Leu Gln Arg Met Tyr Asn Asn Cys
50 55 60

Glu Val Val Leu Ser Asn Leu Glu Ile Thr Tyr Val Glu His Asn Arg
65 70 75 80

Asp Leu Thr Phe Leu Lys Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu
85 90 95

Ile Ala Leu Asn Met Val Asp Val Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile
100 105 110

Ile Arg Gly Asn Val Leu Tyr Asp Asn Ser Phe Ala Leu Ala Val Leu
115 120 125

Ser Asn Tyr His Met Asn Lys Thr Gln Gly Leu Arg Glu Leu Pro Met
130 135 140

Lys Arg Leu Ser Glu Ile Leu Asn Gly Gly Val Lys Ile Ser Asn Asn
145 150 155 160

Pro Lys Leu Cys Asn Met Asp Thr Val Leu Trp Asn Asp Ile Ile Asp
165 170 175

Thr Ser Arg Lys Pro Leu Thr Val Leu Asp Phe Ala Ser Asn Leu Ser
180 185 190

Ser Cys Pro Lys Cys His Pro Asn Cys Thr Glu Asp His Cys Trp Gly
195 200 205

Ala Gly Glu Gln Asn Cys Gln Thr Leu Thr Lys Val Ile Cys Ala Gln
210 215 220

Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg Gly Lys Val Pro Ser Asp Cys Cys His
225 230 235 240

Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu
245 250 255

Ala Cys Arg Lys Phe Arg Asp Asp Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro
260 265 270

Pro Leu Val Leu Tyr Asn Pro Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro
275 280 285

Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly Ala Thr Cys Val Arg Glu Cys Pro His
290 295 300

Asn Tyr Val Val Thr Asp His Gly Ser Cys Val Arg Ser Cys Asn Thr
305 310 315 320

Asp Thr Tyr Glu Val Glu Glu Asn Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys
325 330 335

Asp Gly Leu Cys Ser Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Leu
340 345 350

Lys Gly Ile Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Asp Ser Phe Lys Asn
355 360 365

Cys Thr Lys Ile Asn Gly Asp Val Ser Ile Leu Pro Val Ala Phe Leu
370 375 380

Gly Asp Ala Phe Thr Lys Thr Leu Pro Leu Asp Pro Lys Lys Leu Asp
385 390 395 400

Val Phe Arg Thr Val Lys Glu Ile Ser Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala
405 410 415

Trp Pro Asp Asn Ala Thr Asp Leu Tyr Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile
420 425 430

Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Tyr Ser Leu Ala Val Val
 435 440 445

Asn Leu Lys Ile Gln Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser
 450 455 460

Asp Gly Asp Ile Ala Ile Met Lys Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asp
 465 470 475 480

Thr Met Asn Trp Arg Ser Leu Phe Ala Thr Gln Ser Gln Lys Thr Lys
 485 490 495

Ile Ile Gln Asn Arg Asn Lys Asn Asp Cys Thr Ala Asp Arg His Val
 500 505 510

Cys Asp Pro Leu Cys Ser Asp Val Gly Cys Trp Gly Pro Gly Pro Phe
 515 520 525

His Cys Phe Ser Cys Arg Phe Phe Ser Arg Gln Lys Glu Cys Val Lys
 530 535 540

Gln Cys Asn Ile Leu Gln Gly Glu Pro Arg Glu Phe Glu Arg Asp Ser
 545 550 555 560

Lys Cys Leu Pro Cys His Ser Glu Cys Leu Val Gln Asn Ser Thr Ala
 565 570 575

Tyr Asn Thr Thr Cys Ser Gly Pro Gly Pro Asp His Cys Met Lys Cys
 580 585 590

Ala His Phe Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Ala Cys Pro Ala Gly
 595 600 605

Val Leu Gly Glu Asn Asp Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Asn
 610 615 620

Ala Val Cys Gln Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Arg Gly Cys Lys Gly
 625 630 635 640

Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Asn Gly Ser Lys Thr Pro Ser
 645 650

<210> 21

<211> 4134

<212> DNA

<213> 果蝇(Drosophila melanogaster)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(3630)

<223>

<400> 21

atg atg att atc agc atg tgg atg agc ata tcg cga gga ttg tgg gac 48
 Met Met Ile Ile Ser Met Trp Met Ser Ile Ser Arg Gly Leu Trp Asp
 1 5 10 15

agc agc tcc atc ttg tcg gtg ctg ctg atc ctc gcc tgc atg gca tcc 96
 Ser Ser Ser Ile Leu Ser Val Leu Leu Ile Leu Ala Cys Met Ala Ser
 20 25 30

atc acc aca agc tca tcg gtc agc aat gcc ggc tat gtg gat aat ggc 144
 Ile Thr Thr Ser Ser Ser Val Ser Asn Ala Gly Tyr Val Asp Asn Gly
 35 40 45

aat atg aaa gtc tgc atc ggc act aaa tct cgg ctc tcc gtg ccc tcc 192
 Asn Met Lys Val Cys Ile Gly Thr Lys Ser Arg Leu Ser Val Pro Ser
 50 55 60

aac aag gaa cat cat tac cga aac ctc aga gat cgg tac acg aac tgt 240
 Asn Lys Glu His His Tyr Arg Asn Leu Arg Asp Arg Tyr Thr Asn Cys
 65 70 75 80

acg tat gtg gat ggc aac ttg aaa ctg acc tgg cta ccc aac gag aat 288
 Thr Tyr Val Asp Gly Asn Leu Lys Leu Thr Trp Leu Pro Asn Glu Asn
 85 90 95

ttg gac ctc agc ttc cta gac aac ata cgg gag gtc acc ggc tat att 336
 Leu Asp Leu Ser Phe Leu Asp Asn Ile Arg Glu Val Thr Gly Tyr Ile
 100 105 110

ctg atc agt cat gtg gac gtt aag aaa gtg gtg ttt ccc aaa cta caa 384
 Leu Ile Ser His Val Asp Val Lys Lys Val Val Phe Pro Lys Leu Gln
 115 120 125

atc att cgc gga cgc acg ctg ttc agc tta tcc gtg gag gag gag aag 432
 Ile Ile Arg Gly Arg Thr Leu Phe Ser Leu Ser Val Glu Glu Glu Lys
 130 135 140

tat gcc ttg ttc gtc act tat tcc aaa atg tac acg ctg gag att ccc 480
 Tyr Ala Leu Phe Val Thr Tyr Ser Lys Met Tyr Thr Leu Glu Ile Pro
 145 150 155 160

gat cta cgc gat gtc tta aat ggc caa gtg ggc ttc cac aac aac tac 528
 Asp Leu Arg Asp Val Leu Asn Gly Gln Val Gly Phe His Asn Asn Tyr
 165 170 175

aat ctc tgc cac atg cga acg atc cag tgg tcg gag att gta tcc aac 576
 Asn Leu Cys His Met Arg Thr Ile Gln Trp Ser Glu Ile Val Ser Asn
 180 185 190

ggc acg gat gca tac tac aac tac gac ttt act gct ccg gag cgc gag 624
 Gly Thr Asp Ala Tyr Tyr Asn Tyr Asp Phe Thr Ala Pro Glu Arg Glu
 195 200 205

tgt ccc aag tgc cac gag agc tgc acg cac gga tgt tgg ggc gag ggt 672
 Cys Pro Lys Cys His Glu Ser Cys Thr His Gly Cys Trp Gly Glu Gly
 210 215 220

ccc aag aat tgc cag aag ttc agc aag ctc acc tgc tgc cca cag tgt 720
 Pro Lys Asn Cys Gln Lys Phe Ser Lys Leu Thr Cys Ser Pro Gln Cys
 225 230 235 240

gcc gga ggt cgt tgc tat gga cca aag ccg cgg gag tgt tgt cac ctc 768
 Ala Gly Gly Arg Cys Tyr Gly Pro Lys Pro Arg Glu Cys Cys His Leu
 245 250 255

ttc tgc gcc gga gga tgc act ggt ccc acg caa aag gat tgc atc gcc 816
 Phe Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Pro Thr Gln Lys Asp Cys Ile Ala
 260 265 270

tgc aag aac ttc ttc gac gag gca gta tca aag gag gaa tgc ccg ccc 864
 Cys Lys Asn Phe Phe Asp Glu Ala Val Ser Lys Glu Glu Cys Pro Pro
 275 280 285

atg cgc aag tac aat ccc acc acc tat gtt ctt gaa acg aat cct gag 912
 Met Arg Lys Tyr Asn Pro Thr Thr Tyr Val Leu Glu Thr Asn Pro Glu
 290 295 300

gga aag tat gcc tat ggt gcc acc tgc gtc aag gag tgt ccc ggt cat 960
 Gly Lys Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Cys Val Lys Glu Cys Pro Gly His
 305 310 315 320

ctg ttg cgg gat aat ggc gcc tgc gtg cgc agc tgt ccc cag gac aag 1008
 Leu Leu Arg Asp Asn Gly Ala Cys Val Arg Ser Cys Pro Gln Asp Lys
 325 330 335

atg gac aag ggg ggc gag tgt gtg ccc tgc aat gga ccg tgc ccc aaa 1056
 Met Asp Lys Gly Gly Glu Cys Val Pro Cys Asn Gly Pro Cys Pro Lys
 340 345 350

acc tgc ccg ggc gtt act gtc ctg cat gcc ggc aac att gac tgc ttc 1104
 Thr Cys Pro Gly Val Thr Val Leu His Ala Gly Asn Ile Asp Ser Phe
 355 360 365

cgg aat tgt acg gtg atc gat ggc aac att cgc att ttg gat cag acc 1152
 Arg Asn Cys Thr Val Ile Asp Gly Asn Ile Arg Ile Leu Asp Gln Thr
 370 375 380

ttc tgc ggc ttc cag gat gtc tat gcc aac tac acg atg gga cca cga 1200
 Phe Ser Gly Phe Gln Asp Val Tyr Ala Asn Tyr Thr Met Gly Pro Arg
 385 390 395 400

tac ata ccg ctg gat ccc gag cga cgg gag gtg ttc tcc acg gtg aag 1248
 Tyr Ile Pro Leu Asp Pro Glu Arg Arg Glu Val Phe Ser Thr Val Lys
 405 410 415

gag atc acc ggg tat ctg aat atc gag gga acc cac ccg cag ttc cgg 1296
 Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Asn Ile Glu Gly Thr His Pro Gln Phe Arg
 420 425 430

aat ctg tgc tac ttt cgc aat ctg gaa aca att cat ggc cgc cag ctg 1344
 Asn Leu Ser Tyr Phe Arg Asn Leu Glu Thr Ile His Gly Arg Gln Leu
 70

435 440 445
 atg gag agc atg ttt gcc gct ttg gcg atc gtt aag tca tcc ctg tac 1392
 Met Glu Ser Met Phe Ala Ala Leu Ala Ile Val Lys Ser Ser Leu Tyr
 450 455 460
 agc ctg gag atg cgc aat ctg aag cag att agt tcc ggc agt gtg gtc 1440
 Ser Leu Glu Met Arg Asn Leu Lys Gln Ile Ser Ser Gly Ser Val Val
 465 470 475 480
 atc cag cat aat aga gac ctg tgc tac gta agc aat atc cgt tgg ccg 1488
 Ile Gln His Asn Arg Asp Leu Cys Tyr Val Ser Asn Ile Arg Trp Pro
 485 490 495
 gcc att cag aag gag ccc gaa cag aag gtg tgg gtc aac gag aat ctg 1536
 Ala Ile Gln Lys Glu Pro Glu Gln Lys Val Trp Val Asn Glu Asn Leu
 500 505 510
 agg gcg gat cta tgc gag aaa aat gga acc att tgc tgc gat cag tgc 1584
 Arg Ala Asp Leu Cys Glu Lys Asn Gly Thr Ile Cys Ser Asp Gln Cys
 515 520 525
 aac gag gac ggc tgc tgg gga gct ggc acg gat cag tgc ctt acc tgc 1632
 Asn Glu Asp Gly Cys Trp Gly Ala Gly Thr Asp Gln Cys Leu Thr Cys
 530 535 540
 aag aac ttc aat ttc aat ggc acc tgc atc gcc gac tgt ggt tat ata 1680
 Lys Asn Phe Asn Phe Asn Gly Thr Cys Ile Ala Asp Cys Gly Tyr Ile
 545 550 555 560
 tcc aat gcc tac aag ttt gac aat aga acg tgc aag ata tgc cat cca 1728
 Ser Asn Ala Tyr Lys Phe Asp Asn Arg Thr Cys Lys Ile Cys His Pro
 565 570 575
 gag tgc cgg act tgc aat gga gct gga gca gat cac tgc cag gag tgc 1776
 Glu Cys Arg Thr Cys Asn Gly Ala Gly Ala Asp His Cys Gln Glu Cys
 580 585 590
 gtc cat gtg agg gac ggt cag cac tgt gtg tcc gag tgc ccg aag aac 1824
 Val His Val Arg Asp Gly Gln His Cys Val Ser Glu Cys Pro Lys Asn
 595 600 605
 aag tac aac gat cgt ggt gtc tgc cga gag tgc cac gcc acc tgc gat 1872
 Lys Tyr Asn Asp Arg Gly Val Cys Arg Glu Cys His Ala Thr Cys Asp
 610 615 620
 gga tgc act ggg ccc aag gac acc atc ggc att gga gcg tgt acg acg 1920
 Gly Cys Thr Gly Pro Lys Asp Thr Ile Gly Ile Gly Ala Cys Thr Thr
 625 630 635 640
 tgc aat ttg gcc att atc aac aat gac gcc aca gta aaa cgc tgc ctg 1968
 Cys Asn Leu Ala Ile Ile Asn Asn Asp Ala Thr Val Lys Arg Cys Leu
 645 650 655
 ctg aag gac gac aag tgc ccc gat ggg tat ttc tgg gag tat gtg cat 2016
 Leu Lys Asp Asp Lys Cys Pro Asp Gly Tyr Phe Trp Glu Tyr Val His
 660 665 670
 ccg caa gag cag gga tgc ctg aag cca ttg gcc ggc aga gca gtt tgc 2064
 Pro Gln Glu Gly Ser Leu Lys Pro Leu Ala Gly Arg Ala Val Cys
 675 680 685
 cga aag tgc cat ccc ctt tgc gag ctg tgc acg aac tac gga tac cat 2112

Arg Lys Cys His Pro Leu Cys Glu Leu Cys Thr Asn Tyr Gly Tyr His
 690 695 700
 gaa cag gtg tgc tcc aag tgc acc cac tac aag cga cgg gag cag tgc 2160
 Glu Gln Val Cys Ser Lys Cys Thr His Tyr Lys Arg Arg Glu Gln Cys
 705 710 715 720
 gag acc gag tgt ccg gcc gat cac tac acg gat gag gag cag cgc gag 2208
 Glu Thr Glu Cys Pro Ala Asp His Tyr Thr Asp Glu Glu Gln Arg Glu
 725 730 735
 tgc ttc cag cgc cac ccg gaa tgc aat ggt tgc acg ggt ccg ggt gcc 2256
 Cys Phe Gln Arg His Pro Glu Cys Asn Gly Cys Thr Gly Pro Gly Ala
 740 745 750
 gac gat tgc aag tct tgc cgc aac ttt aag ttg ttc gac gcg aat gag 2304
 Asp Asp Cys Lys Ser Cys Arg Asn Phe Lys Leu Phe Asp Ala Asn Glu
 755 760 765
 acg ggt ccc tat gtg aac tcc acg atg ttc aat tgc acc tcg aag tgt 2352
 Thr Gly Pro Tyr Val Asn Ser Thr Met Phe Asn Cys Thr Ser Lys Cys
 770 775 780
 ccc ttg gag atg cga cat gtg aac tat cag tac acg gcc att gga ccc 2400
 Pro Leu Glu Met Arg His Val Asn Tyr Gln Tyr Thr Ala Ile Gly Pro
 785 790 795 800
 tac tgc gca gct agt ccg ccg agg agc agc aag ata act gcc aat ctg 2448
 Tyr Cys Ala Ala Ser Pro Pro Arg Ser Ser Lys Ile Thr Ala Asn Leu
 805 810 815
 gat gtg aac atg atc ttc att atc act ggt gct gtt ctg gtg ccg acg 2496
 Asp Val Asn Met Ile Phe Ile Ile Thr Gly Ala Val Leu Val Pro Thr
 820 825 830
 atc tgc atc ctc tgc gtg gtc aca tac att tgt cgg caa aag caa aag 2544
 Ile Cys Ile Leu Cys Val Val Thr Tyr Ile Cys Arg Gln Lys Gln Lys
 835 840 845
 gcc aag aag gaa aca gtc aag atg acc atg gct ctg tct ggc tgc gag 2592
 Ala Lys Lys Glu Thr Val Lys Met Thr Met Ala Leu Ser Gly Cys Glu
 850 855 860
 gat tcc gag ccg ctg cgt ccc tcg aac att gga gcc aac cta tgc aag 2640
 Asp Ser Glu Pro Leu Arg Pro Ser Asn Ile Gly Ala Asn Leu Cys Lys
 865 870 875 880
 ttg cgc att gtc aag gac gcc gag ttg cgc aag ggc gga gtc ctt gga 2688
 Leu Arg Ile Val Lys Asp Ala Glu Leu Arg Lys Gly Gly Val Leu Gly
 885 890 895
 atg gga gcc ttt gga cga gtg tac aag ggc gtt tgg gtg ccg gag ggt 2736
 Met Gly Ala Phe Gly Arg Val Tyr Lys Gly Val Trp Val Pro Glu Gly
 900 905 910
 gag aac gtc aag att cca gtg gcc att aag gag ctg ctc aag tcc aca 2784
 Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Leu Lys Ser Thr
 915 920 925
 ggc gcc gag tca agc gaa gag ttc ctc cgc gaa gcc tac atc atg gcc 2832
 Gly Ala Glu Ser Ser Glu Glu Phe Leu Arg Glu Ala Tyr Ile Met Ala
 930 935 940

tct gag gag cac gtt aat ctg ctg aag ctc ctg gcc gtg tgc atg tcc 2880
 Ser Glu Glu His Val Asn Leu Leu Lys Leu Ala Val Cys Met Ser
 945 950 955 960

tca caa atg atg cta atc acg caa ctg atg ccg ctt ggc tgc ctg ttg 2928
 Ser Gln Met Met Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Leu Gly Cys Leu Leu
 965 970 975

gac tat gtg cga aat aac cgg gac aag atc ggc tct aag gct ctg ctc 2976
 Asp Tyr Val Arg Asn Asn Arg Asp Lys Ile Gly Ser Lys Ala Leu Leu
 980 985 990

aac tgg agc acg caa atc gcc aag ggc atg tcg tat ctg gag gag aag 3024
 Asn Trp Ser Thr Gln Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu Glu Glu Lys
 995 1000 1005

cga ctg gtc cac aga gac ttg gct gcc cgc aat gtc ctg gtg cag 3069
 Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Gln
 1010 1015 1020

act ccc tcg ctg gtg aag atc acc gac ttt ggg ctg gcc aag ttg 3114
 Thr Pro Ser Leu Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu
 1025 1030 1035

ctg agc agc gat tcc aat gag tac aag gct gct ggc ggc aag atg 3159
 Leu Ser Ser Asp Ser Asn Glu Tyr Lys Ala Ala Gly Gly Lys Met
 1040 1045 1050

ccc atc aag tgg ttg gca ctg gag tgc atc cgc aat cgt gta ttc 3204
 Pro Ile Lys Trp Leu Ala Leu Glu Cys Ile Arg Asn Arg Val Phe
 1055 1060 1065

acc agc aag tcc gat gtc tgg gcc ttt ggt gtg acc att tgg gaa 3249
 Thr Ser Lys Ser Asp Val Trp Ala Phe Gly Val Thr Ile Trp Glu
 1070 1075 1080

ctg ctg acc ttt ggc cag cgt cca cac gag aac atc cca gct aag 3294
 Leu Leu Thr Phe Gly Gln Arg Pro His Glu Asn Ile Pro Ala Lys
 1085 1090 1095

gat att ccc gat ctt att gaa gtc ggt ctg aag ctg gag cag ccg 3339
 Asp Ile Pro Asp Leu Ile Glu Val Gly Leu Lys Leu Glu Gln Pro
 1100 1105 1110

gag att tgt tcg ctg gac att tac tgt aca ctg ctc tcg tgc tgg 3384
 Glu Ile Cys Ser Leu Asp Ile Tyr Cys Thr Leu Leu Ser Cys Trp
 1115 1120 1125

cac ttg gat gcc gcc atg cgt cca acc ttc aag cag ctg act acg 3429
 His Leu Asp Ala Ala Met Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Thr Thr
 1130 1135 1140

gtc ttt gct gag ttc gcc aga gat ccg ggt cgc tat ctg gcc att 3474
 Val Phe Ala Glu Phe Ala Arg Asp Pro Gly Arg Tyr Leu Ala Ile
 1145 1150 1155

ccc ggg gat aag ttc acc cgg ctg ccg gct tac acg agt cag gat 3519
 Pro Gly Asp Lys Phe Thr Arg Leu Pro Ala Tyr Thr Ser Gln Asp
 1160 1165 1170

gag aag gat ctc atc cga aaa ttg gct ccc acc acc gat ggg tcc 3564
 Glu Lys Asp Leu Ile Arg Lys Leu Ala Pro Thr Thr Asp Gly Ser
 1175 1180 1185

gaa gcc att gcg aaa ccc gat gac tac ctg caa ccc aag gca gca 3609
 Glu Ala Ile Ala Lys Pro Asp Asp Tyr Leu Gln Pro Lys Ala Ala
 1190 1195 1200

cct ggt cct agt cac aga acc gactgcacgg atgagatgcc caagctgaac 3660
 Pro Gly Pro Ser His Arg Thr
 1205 1210

cgctactgca aggatcctag taacaagaat tcgagtaccg gagacgatga gagggattcg 3720

agtgcccggg aagtgggcgt gggtaatctg cgctcgtac taccagtcga tgaggatgat 3780

tatctgatgc ccacttgcca accgggtccc aacaacaaca acaacatgaa taatcccaat 3840

caaaacaata tggcagctgt gggcgtggct gccggctaca tggatctcat cggagtgtccc 3900

gttagtgtgg acaatccgga gtatctgcta aacgcgcaga cactgggagt tggggagtgcg 3960

ccgataccca ccagaccat cgggataccg gtgatgggag gcccgggcac catggaggtc 4020

aaggtgcaa tgccaggcag tgagccaacc agtccgatac acgagtacta caatgatacc 4080

caacgggagt tgcagccact gcatcgaaac cgcaacacgg agacgagggt gtag 4134

<210> 22

<211> 1210

<212> PRT

<213> 果蝇(Drosophila melanogaster)

<400> 22

Met Met Ile Ile Ser Met Trp Met Ser Ile Ser Arg Gly Leu Trp Asp
 1 5 10 15

Ser Ser Ser Ile Leu Ser Val Leu Leu Ile Leu Ala Cys Met Ala Ser
 20 25 30

Ile Thr Thr Ser Ser Ser Val Ser Asn Ala Gly Tyr Val Asp Asn Gly
 35 40 45

Asn Met Lys Val Cys Ile Gly Thr Lys Ser Arg Leu Ser Val Pro Ser
 50 55 60

Asn Lys Glu His His Tyr Arg Asn Leu Arg Asp Arg Tyr Thr Asn Cys
 65 70 75 80

Thr Tyr Val Asp Gly Asn Leu Lys Leu Thr Trp Leu Pro Asn Glu Asn
 85 90 95

Leu Asp Leu Ser Phe Leu Asp Asn Ile Arg Glu Val Thr Gly Tyr Ile

100 105 110

Leu Ile Ser His Val Asp Val Lys Lys Val Val Phe Pro Lys Leu Gln
115 120 125

Ile Ile Arg Gly Arg Thr Leu Phe Ser Leu Ser Val Glu Glu Glu Lys
130 135 140

Tyr Ala Leu Phe Val Thr Tyr Ser Lys Met Tyr Thr Leu Glu Ile Pro
145 150 155 160

Asp Leu Arg Asp Val Leu Asn Gly Gln Val Gly Phe His Asn Asn Tyr
165 170 175

Asn Leu Cys His Met Arg Thr Ile Gln Trp Ser Glu Ile Val Ser Asn
180 185 190

Gly Thr Asp Ala Tyr Tyr Asn Tyr Asp Phe Thr Ala Pro Glu Arg Glu
195 200 205

Cys Pro Lys Cys His Glu Ser Cys Thr His Gly Cys Trp Gly Glu Gly
210 215 220

Pro Lys Asn Cys Gln Lys Phe Ser Lys Leu Thr Cys Ser Pro Gln Cys
225 230 235 240

Ala Gly Gly Arg Cys Tyr Gly Pro Lys Pro Arg Glu Cys Cys His Leu
245 250 255

Phe Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Pro Thr Gln Lys Asp Cys Ile Ala
260 265 270

Cys Lys Asn Phe Phe Asp Glu Ala Val Ser Lys Glu Glu Cys Pro Pro
275 280 285

Met Arg Lys Tyr Asn Pro Thr Thr Tyr Val Leu Glu Thr Asn Pro Glu
290 295 300

Gly Lys Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Cys Val Lys Glu Cys Pro Gly His
305 310 315 320

Leu Leu Arg Asp Asn Gly Ala Cys Val Arg Ser Cys Pro Gln Asp Lys
325 330 335

Met Asp Lys Gly Gly Glu Cys Val Pro Cys Asn Gly Pro Cys Pro Lys
340 345 350

Thr Cys Pro Gly Val Thr Val Leu His Ala Gly Asn Ile Asp Ser Phe
355 360 365

Arg Asn Cys Thr Val Ile Asp Gly Asn Ile Arg Ile Leu Asp Gln Thr
370 375 380

Phe Ser Gly Phe Gln Asp Val Tyr Ala Asn Tyr Thr Met Gly Pro Arg
385 390 395 400

Tyr Ile Pro Leu Asp Pro Glu Arg Arg Glu Val Phe Ser Thr Val Lys
405 410 415

Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Asn Ile Glu Gly Thr His Pro Gln Phe Arg
420 425 430

Asn Leu Ser Tyr Phe Arg Asn Leu Glu Thr Ile His Gly Arg Gln Leu
435 440 445

Met Glu Ser Met Phe Ala Ala Leu Ala Ile Val Lys Ser Ser Leu Tyr
450 455 460

Ser Leu Glu Met Arg Asn Leu Lys Gln Ile Ser Ser Gly Ser Val Val
465 470 475 480

Ile Gln His Asn Arg Asp Leu Cys Tyr Val Ser Asn Ile Arg Trp Pro
485 490 495

Ala Ile Gln Lys Glu Pro Glu Gln Lys Val Trp Val Asn Glu Asn Leu
500 505 510

Arg Ala Asp Leu Cys Glu Lys Asn Gly Thr Ile Cys Ser Asp Gln Cys
515 520 525

Asn Glu Asp Gly Cys Trp Gly Ala Gly Thr Asp Gln Cys Leu Thr Cys
530 535 540

Lys Asn Phe Asn Phe Asn Gly Thr Cys Ile Ala Asp Cys Gly Tyr Ile
545 550 555 560

Ser Asn Ala Tyr Lys Phe Asp Asn Arg Thr Cys Lys Ile Cys His Pro
565 570 575

Glu Cys Arg Thr Cys Asn Gly Ala Gly Ala Asp His Cys Gln Glu Cys
580 585 590

Val His Val Arg Asp Gly Gln His Cys Val Ser Glu Cys Pro Lys Asn
595 600 605

Lys Tyr Asn Asp Arg Gly Val Cys Arg Glu Cys His Ala Thr Cys Asp
610 615 620

Gly Cys Thr Gly Pro Lys Asp Thr Ile Gly Ile Gly Ala Cys Thr Thr
625 630 635 640

Cys Asn Leu Ala Ile Ile Asn Asn Asp Ala Thr Val Lys Arg Cys Leu
645 650 655

Leu Lys Asp Asp Lys Cys Pro Asp Gly Tyr Phe Trp Glu Tyr Val His
660 665 670

Pro Gln Glu Gln Gly Ser Leu Lys Pro Leu Ala Gly Arg Ala Val Cys
675 680 685

Arg Lys Cys His Pro Leu Cys Glu Leu Cys Thr Asn Tyr Gly Tyr His
690 695 700

Glu Gln Val Cys Ser Lys Cys Thr His Tyr Lys Arg Arg Glu Gln Cys
705 710 715 720

Glu Thr Glu Cys Pro Ala Asp His Tyr Thr Asp Glu Glu Gln Arg Glu
725 730 735

Cys Phe Gln Arg His Pro Glu Cys Asn Gly Cys Thr Gly Pro Gly Ala
740 745 750

Asp Asp Cys Lys Ser Cys Arg Asn Phe Lys Leu Phe Asp Ala Asn Glu
755 760 765

Thr Gly Pro Tyr Val Asn Ser Thr Met Phe Asn Cys Thr Ser Lys Cys
770 775 780

Pro Leu Glu Met Arg His Val Asn Tyr Gln Tyr Thr Ala Ile Gly Pro
785 790 795 800

Tyr Cys Ala Ala Ser Pro Pro Arg Ser Ser Lys Ile Thr Ala Asn Leu
805 810 815

Asp Val Asn Met Ile Phe Ile Ile Thr Gly Ala Val Leu Val Pro Thr
820 825 830

Ile Cys Ile Leu Cys Val Val Thr Tyr Ile Cys Arg Gln Lys Gln Lys
835 840 845

Ala Lys Lys Glu Thr Val Lys Met Thr Met Ala Leu Ser Gly Cys Glu
850 855 860

Asp Ser Glu Pro Leu Arg Pro Ser Asn Ile Gly Ala Asn Leu Cys Lys
 865 870 875 880

Leu Arg Ile Val Lys Asp Ala Glu Leu Arg Lys Gly Gly Val Leu Gly
 885 890 895

Met Gly Ala Phe Gly Arg Val Tyr Lys Gly Val Trp Val Pro Glu Gly
 900 905 910

Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Leu Lys Ser Thr
 915 920 925

Gly Ala Glu Ser Ser Glu Glu Phe Leu Arg Glu Ala Tyr Ile Met Ala
 930 935 940

Ser Glu Glu His Val Asn Leu Leu Lys Leu Leu Ala Val Cys Met Ser
 945 950 955 960

Ser Gln Met Met Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Leu Gly Cys Leu Leu
 965 970 975

Asp Tyr Val Arg Asn Asn Arg Asp Lys Ile Gly Ser Lys Ala Leu Leu
 980 985 990

Asn Trp Ser Thr Gln Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu Glu Glu Lys
 995 1000 1005

Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Gln
 1010 1015 1020

Thr Pro Ser Leu Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu
 1025 1030 1035

Leu Ser Ser Asp Ser Asn Glu Tyr Lys Ala Ala Gly Gly Lys Met
 1040 1045 1050

Pro Ile Lys Trp Leu Ala Leu Glu Cys Ile Arg Asn Arg Val Phe
 1055 1060 1065

Thr Ser Lys Ser Asp Val Trp Ala Phe Gly Val Thr Ile Trp Glu
 1070 1075 1080

Leu Leu Thr Phe Gly Gln Arg Pro His Glu Asn Ile Pro Ala Lys
 1085 1090 1095

Asp Ile Pro Asp Leu Ile Glu Val Gly Leu Lys Leu Glu Gln Pro

1100 1105 1110

Glu Ile Cys Ser Leu Asp Ile Tyr Cys Thr Leu Leu Ser Cys Trp
1115 1120 1125His Leu Asp Ala Ala Met Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Thr Thr
1130 1135 1140Val Phe Ala Glu Phe Ala Arg Asp Pro Gly Arg Tyr Leu Ala Ile
1145 1150 1155Pro Gly Asp Lys Phe Thr Arg Leu Pro Ala Tyr Thr Ser Gln Asp
1160 1165 1170Glu Lys Asp Leu Ile Arg Lys Leu Ala Pro Thr Thr Asp Gly Ser
1175 1180 1185Glu Ala Ile Ala Lys Pro Asp Asp Tyr Leu Gln Pro Lys Ala Ala
1190 1195 1200Pro Gly Pro Ser His Arg Thr
1205 1210

<210> 23

<211> 4281

<212> DNA

<213> 果蝇(Drosophila melanogaster)

<400> 23

atgctgctgc gacggcgcaa cggcccctgc cccttcccc tgctgcttct gctcctggcc 60
cactgcattt gcatttggcc cgcgtcggcg gcccgcgatc gctacgccg ccagaacaat 120
cgccagcgcc atcaggatat agatcgcgat cgggatcgag atcgattcct ataccgcagc 180
agttcggccc aaaatcgaca gaggggagg gccaacttcg ccctgggact gggagccaac 240
ggagtcacca ttcccaccag tctggaggat aagaacaaga acgagttcgt caaggggaaa 300
atctgcatcg gcactaaatc tcggctctcc gtgccctcca acaaggaaca tcattaccga 360
aacctcagag atcgggtacac gaactgtacg tatgtggatg gcaactgaa actgacctgg 420
ctaccaacg agaatttga cctcagcttc ctagacaaca tacgggaggt caccggctat 480
attctgatca gtcatttgga cgtaagaaa gtggtgtttc ccaaactaca aatcattcgc 540
ggacgcacgc tggtcagctt atccgtggag gaggagaagt atgccttggt cgtcatttat 600
tccaaaatgt acacgctgga gattcccgat ctacgcgatg tcttaaatgg ccaagtgggc 660

ttccacaaca actacaatct ctgccacatg cgaacgatcc agtggtcgga gattgtatcc 720
 aacggcacgg atgcatacta caactacgac ttactgctc cggagcgcga gtgtcccaag 780
 tgccacgaga gctgcacgca cggatgttg ggaggggtc ccaagaattg ccagaagttc 840
 agcaagctca cctgctcgcc acagtgtgcc ggaggtcgtt gctatggacc aaagccgcgg 900
 gagtgtgtgc acctcttctg cgccggagga tgactgggtc ccacgcaaaa ggattgcatc 960
 gcctgcaaga acttcttcga cgaggcagta tcaaggagg aatgcccgcc catgcgcaag 1020
 tacaatcca ccacatatgt tctgaaacg aatcctgagg gaaagtatgc ctatgggtgcc 1080
 acctgcgtca aggagtgtcc cggatcatctg ttgcgggata atggcgctg cgtgcgcagc 1140
 tgtccccagg acaagatgga caaggggggc gagtgtgtgc cctgcaatgg accgtgcccc 1200
 aaaacctgcc cgggcgttac tgtctgcat gccggcaaca ttgactcgtt ccggaattgt 1260
 acggtgatcg atggcaacat tcgcatttg gatcagacct tctcgggctt ccaggatgtc 1320
 tatgccaact acacgatggg accacgatac ataccgctgg atcccagcg acgggaggtg 1380
 ttctccacgg tgaaggagat caccgggtat ctgaatatcg agggaaccca cccgcagttc 1440
 cggaatctgt cgtactttcg caatctggaa acaattcatg gccgccagct gatggagagc 1500
 atgtttgccg cttggcgat cgtaagtca tcctgtaca gcctggagat gcgcaatctg 1560
 aagcagatta gttccggcag tgtgtcatc cagcataata gagacctctg ctacgtaagc 1620
 aatatccgtt ggccggccat tcagaaggag cccgaacaga aggtgtgggt caacgagaat 1680
 ctcagggcgg atctatgca gaaaaatgga accatttgct cggatcagtg caacgaggac 1740
 ggctgctggg gagctggcac ggatcagtg cttacctgca agaactcaa ttcaatggc 1800
 acctgcatcg ccgactgtgg ttatatatcc aatgcctaca agtttgacaa tagaacgtgc 1860
 aagatatgcc atccagagtg ccggacttgc aatggagctg gagcagatca ctgccaggag 1920
 tgcgtccatg tgagggacgg tcagcactgt gtgtccgagt gccgaagaa caagtacaac 1980
 gatcgtgggt tctgccgaga gtgccacgcc acctgcgatg gatgcactgg gcccaaggac 2040
 accatcgga ttggagcgtg tacgacgtgc aattggcca ttatcaacaa tgacgccaca 2100
 gtaaaacgct gcctgtgaa ggacgacaag tgccccgatg ggtatttctg ggagtatgtg 2160
 catccgcaag agcagggatc gctgaagcca ttggccggca gagcagtttg ccgaaagtgc 2220
 catcccttt gcgagctgtg cacgaactac ggataccatg aacaggtgtg ctccaagtgc 2280
 acccactaca agcgacggga gcagtgcgag accgagtgtc cggccgatca ctacacggat 2340
 gaggagcagc gcgagtgtt ccagcgccac ccggaatgca atggttgac ggggtccgggt 2400
 gccgacgatt gcaagtcttg ccgcaacttt aagttgttc acgcgaatga gacgggtccc 2460
 tatgtgaact ccacgatgtt caattgcacc tcgaagtgtc cttggagat gcgacatgtg 2520

aactatcagt acacggccat tggaccctac tgcgcagcta gtccgccgag gagcagcaag 2580
ataactgcca atctggatgt gaacatgata ttcattatca ctggtgctgt tctggtgccg 2640
acgatctgca tcctctgcgt ggtcacatac atttgtcggc aaaagcaaaa ggccaagaag 2700
gaaacagtca agatgacat ggctctgtct ggctgcgagg attccgagcc gctgcgtccc 2760
tcgaacattg gagccaacct atgcaagttg cgcattgtca aggacgccga gttgcgcaag 2820
ggcggagtc ttggaatggg agcctttgga cgagtgtaca agggcgttt gggtgccgag 2880
gggtgagaacg tcaagattcc agtggccatt aaggagctgc tcaagtccac aggcgccgag 2940
tcaagcgaag agttctctcg cgaagcctac atcatggcct ctgaggagca cgtaattctg 3000
ctgaagctcc tggccgtgtg catgtcctca caaatgatgc taatcacgca actgatgccg 3060
cttggctgcc tgttgacta tgtgcgaaat aaccgggaca agatcggtc taaggctctg 3120
ctcaactgga gcacgcaaat cgccaagggc atgtcgtatc tggaggagaa gcgactggtc 3180
cacagagact tggctgccc caatgtcctg gtgcagactc cctcgctggt gaagatcacc 3240
gactttggg tggccaagt gctgagcagc gattccaatg agtacaaggc tgctggcggc 3300
aagatgccca tcaagtgggt ggactggag tgcattccga atcgtgtatt caccagcaag 3360
tccgatgtct gggcctttg tgtgaccatt tgggaactgc tgacctttg ccagcgtcca 3420
cacgagaaca tccagctaa ggatattccc gatcttattg aagtcggtct gaagctggag 3480
cagccggaga ttgttcgt ggacattac tgtactgc tctcgtctg gcactggat 3540
gccgccatgc gtccaacct caagcagctg actacggtct ttgctgagtt cgccagagat 3600
ccgggtcgt atctggccat tccggggat aagttcacc ggctgccggc ttacacgagt 3660
caggatgaga aggatctcat ccgaaaattg gctccacca ccgatgggtc cgaagccatt 3720
gcgaaaccg atgactacct gcaaccaag gcagcacctg gtcctagtca cagaaccgac 3780
tgcacggatg agatgccaa gctgaaccgc tactgcaagg atcctagtaa caagaattcg 3840
agtaccggag acgatgagag ggattcgagt gcccggaag tggcggtgg taatctgcgc 3900
ctcgatctac cagtcgatga ggatgattat ctgatgccca ctgccaacc ggtcccaac 3960
aacaacaaca acatgaataa tccaatcaa aacaatatg cagctgtggg cgtggctgcc 4020
ggctacatgg atctcatcg agtgccggt agtggtgaca atccggagta tctgctaaac 4080
gcgcagacac tgggagttg ggagtcgcc ataccaccc agaccatcg gataccggtg 4140
atgggaggcc cgggacccat ggaggtcaag gtgccaatgc caggcagtga gccaaaccagc 4200
tccgatcacg agtactacaa tgataccaa cgggagttgc agccactgca tcgaaaccgc 4260
aacacggaga cgagggtgta g 4281

<210> 24

<211> 4281

<212> DNA

<213> 大鼠(Rattus norvegicus)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(3627)

<223>

<400> 24

atg ctg ctg cga cgg cgc aac ggc ccc tgc ccc ttc ccc ctg ctg ctt 48
 Met Leu Leu Arg Arg Arg Asn Gly Pro Cys Pro Phe Pro Leu Leu Leu
 1 5 10 15

ctg ctg ctg gcc cac tgc att tgc att tgg ccc gcg tgc gcg gcc cgc 96
 Leu Leu Leu Ala His Cys Ile Cys Ile Trp Pro Ala Ser Ala Ala Arg
 20 25 30

gat cgc tac gcc cgc cag aac aat cgc cag cgc cat cag gat ata gat 144
 Asp Arg Tyr Ala Arg Gln Asn Asn Arg Gln Arg His Gln Asp Ile Asp
 35 40 45

cgc gat cgg gat cga gat cga ttc cta tac cgc agc agt tgc gcc caa 192
 Arg Asp Arg Asp Arg Asp Arg Phe Leu Tyr Arg Ser Ser Ser Ala Gln
 50 55 60

aat cga cag agg ggc ggg gcc aac ttc gcc ctg gga ctg gga gcc aac 240
 Asn Arg Gln Arg Gly Gly Ala Asn Phe Ala Leu Gly Leu Gly Ala Asn
 65 70 75 80

gga gtc acc att ccc acc agt ctg gag gat aag aac aag aac gag ttc 288
 Gly Val Thr Ile Pro Thr Ser Leu Glu Asp Lys Asn Lys Asn Glu Phe
 85 90 95

gtc aag ggg aaa atc tgc atc ggc act aaa tct cgg ctg tcc gtg ccc 336
 Val Lys Gly Lys Ile Cys Ile Gly Thr Lys Ser Arg Leu Ser Val Pro
 100 105 110

tcc aac aag gaa cat cat tac cga aac ctg aga gat cgg tac acg aac 384
 Ser Asn Lys Glu His His Tyr Arg Asn Leu Arg Asp Arg Tyr Thr Asn
 115 120 125

tgt acg tat gtg gat ggc aac ttg aaa ctg acc tgg cta ccc aac gag 432
 Cys Thr Tyr Val Asp Gly Asn Lys Leu Thr Trp Leu Pro Asn Glu
 130 135 140

aat ttg gac ctg agc ttc cta gac aac ata cgg gag gtc acc ggc tat 480
 Asn Leu Asp Leu Ser Phe Leu Asp Asn Ile Arg Glu Val Thr Gly Tyr
 145 150 155 160

att ctg atc agt cat gtg gac gtt aag aaa gtg gtg ttt ccc aaa cta 528
 Ile Leu Ile Ser His Val Asp Val Lys Lys Val Val Phe Pro Lys Leu
 165 170 175

caa atc att cgc gga cgc acg ctg ttc agc tta tcc gtg gag gag gag 576
 Gln Ile Ile Arg Gly Arg Thr Leu Phe Ser Leu Ser Val Glu Glu Glu
 180 185 190

aag tat gcc ttg ttc gtc act tat tcc aaa atg tac acg ctg gag att 624
 Lys Tyr Ala Leu Phe Val Thr Tyr Ser Lys Met Tyr Thr Leu Glu Ile
 195 200 205

ccc gat cta cgc gat gtc tta aat ggc caa gtg ggc ttc cac aac aac 672
 Pro Asp Leu Arg Asp Val Leu Asn Gly Gln Val Gly Phe His Asn Asn
 210 215 220

tac aat ctc tgc cac atg cga acg atc cag tgg tgc gag att gta tcc 720
 Tyr Asn Leu Cys His Met Arg Thr Ile Gln Trp Ser Glu Ile Val Ser
 225 230 235 240

aac ggc acg gat gca tac tac aac tac gac ttt act gct ccg gag cgc 768
 Asn Gly Thr Asp Ala Tyr Tyr Asn Tyr Asp Phe Thr Ala Pro Glu Arg
 245 250 255

gag tgt ccc aag tgc cac gag agc tgc acg cac gga tgt tgg ggc gag 816
 Glu Cys Pro Lys Cys His Glu Ser Cys Thr His Gly Cys Trp Gly Glu
 260 265 270

ggt ccc aag aat tgc cag aag ttc agc aag ctc acc tgc tgc cca cag 864
 Gly Pro Lys Asn Cys Gln Lys Phe Ser Lys Leu Thr Cys Ser Pro Gln
 275 280 285

tgt gcc gga ggt cgt tgc tat gga cca aag ccg cgg gag tgt tgt cac 912
 Cys Ala Gly Gly Arg Cys Tyr Gly Pro Lys Pro Arg Glu Cys Cys His
 290 295 300

ctc ttc tgc gcc gga gga tgc act ggt ccc acg caa aag gat tgc atc 960
 Leu Phe Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Pro Thr Gln Lys Asp Cys Ile
 305 310 315 320

gcc tgc aag aac ttc ttc gac gag gca gta tca aag gag gaa tgc ccg 1008
 Ala Cys Lys Asn Phe Phe Asp Glu Ala Val Ser Lys Glu Glu Cys Pro
 325 330 335

ccc atg cgc aag tac aat ccc acc acc tat gtt ctt gaa acg aat cct 1056
 Pro Met Arg Lys Tyr Asn Pro Thr Thr Tyr Val Leu Glu Thr Asn Pro
 340 345 350

gag gga aag tat gcc tat ggt gcc acc tgc gtc aag gag tgt ccc ggt 1104
 Glu Gly Lys Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Cys Val Lys Glu Cys Pro Gly
 355 360 365

cat ctg ttg cgg gat aat ggc gcc tgc gtg cgc agc tgt ccc cag gac 1152
 His Leu Leu Arg Asp Asn Gly Ala Cys Val Arg Ser Cys Pro Gln Asp
 370 375 380

aag atg gac aag ggg ggc gag tgt gtg ccc tgc aat gga ccg tgc ccc 1200
 Lys Met Asp Lys Gly Gly Glu Cys Val Pro Cys Asn Gly Pro Cys Pro
 385 390 395 400

aaa acc tgc ccg ggc gtt act gtc ctg cat gcc ggc aac att gac tgc 1248
 Lys Thr Cys Pro Gly Val Thr Val Leu His Ala Gly Asn Ile Asp Ser
 405 410 415

ttc cgg aat tgt acg gtg atc gat ggc aac att cgc att ttg gat cag 1296
 Phe Arg Asn Cys Thr Val Ile Asp Gly Asn Ile Arg Ile Leu Asp Gln
 420 425 430

acc ttc tcg ggc ttc cag gat gtc tat gcc aac tac acg atg gga cca 1344
 Thr Phe Ser Gly Phe Gln Asp Val Tyr Ala Asn Tyr Thr Met Gly Pro
 435 440 445

cga tac ata ccg ctg gat ccc gag cga cgg gag gtg ttc tcc acg gtg 1392
 Arg Tyr Ile Pro Leu Asp Pro Glu Arg Arg Glu Val Phe Ser Thr Val
 450 455 460

aag gag atc acc ggg tat ctg aat atc gag gga acc cac ccg cag ttc 1440
 Lys Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Asn Ile Glu Gly Thr His Pro Gln Phe
 465 470 475 480

cgg aat ctg tcg tac ttt cgc aat ctg gaa aca att cat ggc cgc cag 1488
 Arg Asn Leu Ser Tyr Phe Arg Asn Leu Glu Thr Ile His Gly Arg Gln
 485 490 495

ctg atg gag agc atg ttt gcc gct ttg gcg atc gtt aag tca tcc ctg 1536
 Leu Met Glu Ser Met Phe Ala Ala Leu Ala Ile Val Lys Ser Ser Leu
 500 505 510

tac agc ctg gag atg cgc aat ctg aag cag att agt tcc ggc agt gtg 1584
 Tyr Ser Leu Glu Met Arg Asn Leu Lys Gln Ile Ser Ser Gly Ser Val
 515 520 525

gtc atc cag cat aat aga gac ctc tgc tac gta agc aat atc cgt tgg 1632
 Val Ile Gln His Asn Arg Asp Leu Cys Tyr Val Ser Asn Ile Arg Trp
 530 535 540

ccg gcc att cag aag gag ccc gaa cag aag gtg tgg gtc aac gag aat 1680
 Pro Ala Ile Gln Lys Glu Pro Glu Gln Lys Val Trp Val Asn Glu Asn
 545 550 555 560

ctc agg gcg gat cta tgc gag aaa aat gga acc att tgc tcg gat cag 1728
 Leu Arg Ala Asp Leu Cys Glu Lys Asn Gly Thr Ile Cys Ser Asp Gln
 565 570 575

tgc aac gag gac ggc tgc tgg gga gct ggc acg gat cag tgc ctt acc 1776
 Cys Asn Glu Asp Gly Cys Trp Gly Ala Gly Thr Asp Gln Cys Leu Thr
 580 585 590

tgc aag aac ttc aat ttc aat ggc acc tgc atc gcc gac tgt ggt tat 1824
 Cys Lys Asn Phe Asn Phe Asn Gly Thr Cys Ile Ala Asp Cys Gly Tyr
 595 600 605

ata tcc aat gcc tac aag ttt gac aat aga acg tgc aag ata tgc cat 1872
 Ile Ser Asn Ala Tyr Lys Phe Asp Asn Arg Thr Cys Lys Ile Cys His
 610 615 620

cca gag tgc cgg act tgc aat gga gct gga gca gat cac tgc cag gag 1920
 Pro Glu Cys Arg Thr Cys Asn Gly Ala Gly Ala Asp His Cys Gln Glu
 625 630 635 640

tgc gtc cat gtg agg gac ggt cag cac tgt gtg tcc gag tgc ccg aag 1968
 Cys Val His Val Arg Asp Gly Gln His Cys Val Ser Glu Cys Pro Lys
 645 650 655

aac aag tac aac gat cgt ggt gtc tgc cga gag tgc cac gcc acc tgc 2016
 Asn Lys Tyr Asn Asp Arg Gly Val Cys Arg Glu Cys His Ala Thr Cys
 660 665 670

gat gga tgc act ggg ccc aag gac acc atc ggc att gga gcg tgt acg 2064
 Asp Gly Cys Thr Gly Pro Lys Asp Thr Ile Gly Ile Gly Ala Cys Thr
 84

675	680	685	
acg tgc aat ttg gcc att atc aac aat gac gcc aca gta aaa cgc tgc	2112		
Thr Cys Asn Leu Ala Ile Ile Asn Asn Asp Ala Thr Val Lys Arg Cys			
690	695	700	
ctg ctg aag gac gac aag tgc ccc gat ggg tat ttc tgg gag tat gtg	2160		
Leu Leu Lys Asp Asp Lys Cys Pro Asp Gly Tyr Phe Trp Glu Tyr Val			
705	710	715	720
cat ccg caa gag cag gga tgc ctg aag cca ttg gcc ggc aga gca gtt	2208		
His Pro Gln Glu Gln Gly Ser Leu Lys Pro Leu Ala Gly Arg Ala Val			
725	730	735	
tgc cga aag tgc cat ccc ctt tgc gag ctg tgc acg aac tac gga tac	2256		
Cys Arg Lys Cys His Pro Leu Cys Glu Leu Cys Thr Asn Tyr Gly Tyr			
740	745	750	
cat gaa cag gtg tgc tcc aag tgc acc cac tac aag cga cgg gag cag	2304		
His Glu Gln Val Cys Ser Lys Cys Thr His Tyr Lys Arg Arg Glu Gln			
755	760	765	
tgc gag acc gag tgt ccg gcc gat cac tac acg gat gag gag cag cgc	2352		
Cys Glu Thr Glu Cys Pro Ala Asp His Tyr Thr Asp Glu Glu Gln Arg			
770	775	780	
gag tgc ttc cag cgc cac ccg gaa tgc aat ggt tgc acg ggt ccg ggt	2400		
Glu Cys Phe Gln Arg His Pro Glu Cys Asn Gly Cys Thr Gly Pro Gly			
785	790	795	800
gcc gac gat tgc aag tct tgc cgc aac ttt aag ttg ttc gac gcg aat	2448		
Ala Asp Asp Cys Lys Ser Cys Arg Asn Phe Lys Leu Phe Asp Ala Asn			
805	810	815	
gag acg ggt ccc tat gtg aac tcc acg atg ttc aat tgc acc tcg aag	2496		
Glu Thr Gly Pro Tyr Val Asn Ser Thr Met Phe Asn Cys Thr Ser Lys			
820	825	830	
tgt ccc ttg gag atg cga cat gtg aac tat cag tac acg gcc att gga	2544		
Cys Pro Leu Glu Met Arg His Val Asn Tyr Gln Tyr Thr Ala Ile Gly			
835	840	845	
ccc tac tgc gca gct agt ccg ccg agg agc agc aag ata act gcc aat	2592		
Pro Tyr Cys Ala Ala Ser Pro Pro Arg Ser Ser Lys Ile Thr Ala Asn			
850	855	860	
ctg gat gtg aac atg atc ttc att atc act ggt gct gtt ctg gtg ccg	2640		
Leu Asp Val Asn Met Ile Phe Ile Ile Thr Gly Ala Val Leu Val Pro			
865	870	875	880
acg atc tgc atc ctc tgc gtg gtc aca tac att tgt cgg caa aag caa	2688		
Thr Ile Cys Ile Leu Cys Val Val Thr Tyr Ile Cys Arg Gln Lys Gln			
885	890	895	
aag gcc aag aag gaa aca gtc aag atg acc atg gct ctg tct ggc tgc	2736		
Lys Ala Lys Lys Glu Thr Val Lys Met Thr Met Ala Leu Ser Gly Cys			
900	905	910	
gag gat tcc gag ccg ctg cgt ccc tcg aac att gga gcc aac cta tgc	2784		
Glu Asp Ser Glu Pro Leu Arg Pro Ser Asn Ile Gly Ala Asn Leu Cys			
915	920	925	
aag ttg cgc att gtc aag gac gcc gag ttg cgc aag ggc gga gtc ctt	2832		
	85		

Lys Leu Arg Ile Val Lys Asp Ala Glu Leu Arg Lys Gly Gly Val Leu
 930 935 940
 gga atg gga gcc ttt gga cga gtg tac aag ggc gtt tgg gtg ccg gag 2880
 Gly Met Gly Ala Phe Gly Arg Val Tyr Lys Gly Val Trp Val Pro Glu
 945 950 955 960
 ggt gag aac gtc aag att cca gtg gcc att aag gag ctg ctc aag tcc 2928
 Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Leu Lys Ser
 965 970 975
 aca ggc gcc gag tca agc gaa gag ttc ctc cgc gaa gcc tac atc atg 2976
 Thr Gly Ala Glu Ser Ser Glu Glu Phe Leu Arg Glu Ala Tyr Ile Met
 980 985 990
 gcc tct gag gag cac gtt aat ctg ctg aag ctc ctg gcc gtg tgc atg 3024
 Ala Ser Glu Glu His Val Asn Leu Leu Lys Leu Leu Ala Val Cys Met
 995 1000 1005
 tcc tca caa atg atg cta atc acg caa ctg atg ccg ctt ggc tgc 3069
 Ser Ser Gln Met Met Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Leu Gly Cys
 1010 1015 1020
 ctg ttg gac tat gtg cga aat aac cgg gac aag atc ggc tct aag 3114
 Leu Leu Asp Tyr Val Arg Asn Asn Arg Asp Lys Ile Gly Ser Lys
 1025 1030 1035
 gct ctg ctc aac tgg agc acg caa atc gcc aag ggc atg tgc tat 3159
 Ala Leu Leu Asn Trp Ser Thr Gln Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr
 1040 1045 1050
 ctg gag gag aag cga ctg gtc cac aga gac ttg gct gcc cgc aat 3204
 Leu Glu Glu Lys Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn
 1055 1060 1065
 gtc ctg gtg cag act ccc tgc ctg gtg aag atc acc gac ttt ggg 3249
 Val Leu Val Gln Thr Pro Ser Leu Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly
 1070 1075 1080
 ctg gcc aag ttg ctg agc agc gat tcc aat gag tac aag gct gct 3294
 Leu Ala Lys Leu Leu Ser Ser Asp Ser Asn Glu Tyr Lys Ala Ala
 1085 1090 1095
 ggc ggc aag atg ccc atc aag tgg ttg gca ctg gag tgc atc cgc 3339
 Gly Gly Lys Met Pro Ile Lys Trp Leu Ala Leu Glu Cys Ile Arg
 1100 1105 1110
 aat cgt gta ttc acc agc aag tcc gat gtc tgg gcc ttt ggt gtg 3384
 Asn Arg Val Phe Thr Ser Lys Ser Asp Val Trp Ala Phe Gly Val
 1115 1120 1125
 acc att tgg gaa ctg ctg acc ttt ggc cag cgt cca cac gag aac 3429
 Thr Ile Trp Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gln Arg Pro His Glu Asn
 1130 1135 1140
 atc cca gct aag gat att ccc gat ctt att gaa gtc ggt ctg aag 3474
 Ile Pro Ala Lys Asp Ile Pro Asp Leu Ile Glu Val Gly Leu Lys
 1145 1150 1155
 ctg gag cag ccg gag att tgt tgc ctg gac att tac tgt aca ctg 3519
 Leu Glu Gln Pro Glu Ile Cys Ser Leu Asp Ile Tyr Cys Thr Leu
 1160 1165 1170

ctc tcg tgc tgg cac ttg gat gcc gcc atg cgt cca acc ttc aag 3564
 Leu Ser Cys Trp His Leu Asp Ala Ala Met Arg Pro Thr Phe Lys
 1175 1180 1185

cag ctg act acg gtc ttt gct gag ttc gcc aga gat ccg ggt cgc 3609
 Gln Leu Thr Thr Val Phe Ala Glu Phe Ala Arg Asp Pro Gly Arg
 1190 1195 1200

tat ctg gcc att ccc ggg gataagtca cccggctgcc ggcttacacg 3657
 Tyr Leu Ala Ile Pro Gly
 1205

agtcaggatg agaaggatct catccgaaaa ttggctccca ccaccgatgg gtccgaagcc 3717

attgcgaaac ccgatgacta cctgcaaccc aaggcagcac ctggctctag tcacagaacc 3777

gactgcacgg atgagatgcc caagctgaac cgctactgca aggatcctag taacaagaat 3837

tcgagtaccg gagacgatga gagggattcg agtgcccggg aagtgggcgt gggtaatctg 3897

cgctcgcgtc taccagtcca tgaggatgat tatctgatgc ccacttgcca accgggtccc 3957

aacaacaaca acaacatgaa taatccaat caaaacaata tggcagctgt gggcgtggct 4017

gccggctaca tggatctcat cggagtgtcc gttagtgtgg acaatccgga gtatctgcta 4077

aacgcgcaga cactgggagt tggggagtgc ccgataccca ccagacat cggtataccg 4137

gtgatgggag gcccgggcac catggaggtc aagggtgcaa tgccaggcag tgagccaacc 4197

agctccgatc acgagtacta caatgatacc caacgggagt tgacgccact gcatcgaaac 4257

cgcaacacgg agacgagggt gtag 4281

<210> 25

<211> 1209

<212> PRT

<213> 大鼠(Rattus norvegicus)

<400> 25

Met Leu Leu Arg Arg Arg Asn Gly Pro Cys Pro Phe Pro Leu Leu Leu
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Ala His Cys Ile Cys Ile Trp Pro Ala Ser Ala Ala Arg
 20 25 30

Asp Arg Tyr Ala Arg Gln Asn Asn Arg Gln Arg His Gln Asp Ile Asp
 35 40 45

Arg Asp Arg Asp Arg Asp Arg Phe Leu Tyr Arg Ser Ser Ser Ala Gln
 50 55 60

Asn Arg Gln Arg Gly Gly Ala Asn Phe Ala Leu Gly Leu Gly Ala Asn
65 70 75 80

Gly Val Thr Ile Pro Thr Ser Leu Glu Asp Lys Asn Lys Asn Glu Phe
85 90 95

Val Lys Gly Lys Ile Cys Ile Gly Thr Lys Ser Arg Leu Ser Val Pro
100 105 110

Ser Asn Lys Glu His His Tyr Arg Asn Leu Arg Asp Arg Tyr Thr Asn
115 120 125

Cys Thr Tyr Val Asp Gly Asn Leu Lys Leu Thr Trp Leu Pro Asn Glu
130 135 140

Asn Leu Asp Leu Ser Phe Leu Asp Asn Ile Arg Glu Val Thr Gly Tyr
145 150 155 160

Ile Leu Ile Ser His Val Asp Val Lys Lys Val Val Phe Pro Lys Leu
165 170 175

Gln Ile Ile Arg Gly Arg Thr Leu Phe Ser Leu Ser Val Glu Glu Glu
180 185 190

Lys Tyr Ala Leu Phe Val Thr Tyr Ser Lys Met Tyr Thr Leu Glu Ile
195 200 205

Pro Asp Leu Arg Asp Val Leu Asn Gly Gln Val Gly Phe His Asn Asn
210 215 220

Tyr Asn Leu Cys His Met Arg Thr Ile Gln Trp Ser Glu Ile Val Ser
225 230 235 240

Asn Gly Thr Asp Ala Tyr Tyr Asn Tyr Asp Phe Thr Ala Pro Glu Arg
245 250 255

Glu Cys Pro Lys Cys His Glu Ser Cys Thr His Gly Cys Trp Gly Glu
260 265 270

Gly Pro Lys Asn Cys Gln Lys Phe Ser Lys Leu Thr Cys Ser Pro Gln
275 280 285

Cys Ala Gly Gly Arg Cys Tyr Gly Pro Lys Pro Arg Glu Cys Cys His
290 295 300

Leu Phe Cys Ala Gly Gly Cys Thr Gly Pro Thr Gln Lys Asp Cys Ile
305 310 315 320

Ala Cys Lys Asn Phe Phe Asp Glu Ala Val Ser Lys Glu Glu Cys Pro
325 330 335

Pro Met Arg Lys Tyr Asn Pro Thr Thr Tyr Val Leu Glu Thr Asn Pro
340 345 350

Glu Gly Lys Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Cys Val Lys Glu Cys Pro Gly
355 360 365

His Leu Leu Arg Asp Asn Gly Ala Cys Val Arg Ser Cys Pro Gln Asp
370 375 380

Lys Met Asp Lys Gly Gly Glu Cys Val Pro Cys Asn Gly Pro Cys Pro
385 390 395 400

Lys Thr Cys Pro Gly Val Thr Val Leu His Ala Gly Asn Ile Asp Ser
405 410 415

Phe Arg Asn Cys Thr Val Ile Asp Gly Asn Ile Arg Ile Leu Asp Gln
420 425 430

Thr Phe Ser Gly Phe Gln Asp Val Tyr Ala Asn Tyr Thr Met Gly Pro
435 440 445

Arg Tyr Ile Pro Leu Asp Pro Glu Arg Arg Glu Val Phe Ser Thr Val
450 455 460

Lys Glu Ile Thr Gly Tyr Leu Asn Ile Glu Gly Thr His Pro Gln Phe
465 470 475 480

Arg Asn Leu Ser Tyr Phe Arg Asn Leu Glu Thr Ile His Gly Arg Gln
485 490 495

Leu Met Glu Ser Met Phe Ala Ala Leu Ala Ile Val Lys Ser Ser Leu
500 505 510

Tyr Ser Leu Glu Met Arg Asn Leu Lys Gln Ile Ser Ser Gly Ser Val
515 520 525

Val Ile Gln His Asn Arg Asp Leu Cys Tyr Val Ser Asn Ile Arg Trp
530 535 540

Pro Ala Ile Gln Lys Glu Pro Glu Gln Lys Val Trp Val Asn Glu Asn
545 550 555 560

Leu Arg Ala Asp Leu Cys Glu Lys Asn Gly Thr Ile Cys Ser Asp Gln
565 570 575

Cys Asn Glu Asp Gly Cys Trp Gly Ala Gly Thr Asp Gln Cys Leu Thr
580 585 590

Cys Lys Asn Phe Asn Phe Asn Gly Thr Cys Ile Ala Asp Cys Gly Tyr
595 600 605

Ile Ser Asn Ala Tyr Lys Phe Asp Asn Arg Thr Cys Lys Ile Cys His
610 615 620

Pro Glu Cys Arg Thr Cys Asn Gly Ala Gly Ala Asp His Cys Gln Glu
625 630 635 640

Cys Val His Val Arg Asp Gly Gln His Cys Val Ser Glu Cys Pro Lys
645 650 655

Asn Lys Tyr Asn Asp Arg Gly Val Cys Arg Glu Cys His Ala Thr Cys
660 665 670

Asp Gly Cys Thr Gly Pro Lys Asp Thr Ile Gly Ile Gly Ala Cys Thr
675 680 685

Thr Cys Asn Leu Ala Ile Ile Asn Asn Asp Ala Thr Val Lys Arg Cys
690 695 700

Leu Leu Lys Asp Asp Lys Cys Pro Asp Gly Tyr Phe Trp Glu Tyr Val
705 710 715 720

His Pro Gln Glu Gln Gly Ser Leu Lys Pro Leu Ala Gly Arg Ala Val
725 730 735

Cys Arg Lys Cys His Pro Leu Cys Glu Leu Cys Thr Asn Tyr Gly Tyr
740 745 750

His Glu Gln Val Cys Ser Lys Cys Thr His Tyr Lys Arg Arg Glu Gln
755 760 765

Cys Glu Thr Glu Cys Pro Ala Asp His Tyr Thr Asp Glu Glu Gln Arg
770 775 780

Glu Cys Phe Gln Arg His Pro Glu Cys Asn Gly Cys Thr Gly Pro Gly
785 790 795 800

Ala Asp Asp Cys Lys Ser Cys Arg Asn Phe Lys Leu Phe Asp Ala Asn
805 810 815

Glu Thr Gly Pro Tyr Val Asn Ser Thr Met Phe Asn Cys Thr Ser Lys
90

820 825 830

Cys Pro Leu Glu Met Arg His Val Asn Tyr Gln Tyr Thr Ala Ile Gly
835 840 845

Pro Tyr Cys Ala Ala Ser Pro Pro Arg Ser Ser Lys Ile Thr Ala Asn
850 855 860

Leu Asp Val Asn Met Ile Phe Ile Ile Thr Gly Ala Val Leu Val Pro
865 870 875 880

Thr Ile Cys Ile Leu Cys Val Val Thr Tyr Ile Cys Arg Gln Lys Gln
885 890 895

Lys Ala Lys Lys Glu Thr Val Lys Met Thr Met Ala Leu Ser Gly Cys
900 905 910

Glu Asp Ser Glu Pro Leu Arg Pro Ser Asn Ile Gly Ala Asn Leu Cys
915 920 925

Lys Leu Arg Ile Val Lys Asp Ala Glu Leu Arg Lys Gly Gly Val Leu
930 935 940

Gly Met Gly Ala Phe Gly Arg Val Tyr Lys Gly Val Trp Val Pro Glu
945 950 955 960

Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Leu Lys Ser
965 970 975

Thr Gly Ala Glu Ser Ser Glu Glu Phe Leu Arg Glu Ala Tyr Ile Met
980 985 990

Ala Ser Glu Glu His Val Asn Leu Leu Lys Leu Leu Ala Val Cys Met
995 1000 1005

Ser Ser Gln Met Met Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Leu Gly Cys
1010 1015 1020

Leu Leu Asp Tyr Val Arg Asn Asn Arg Asp Lys Ile Gly Ser Lys
1025 1030 1035

Ala Leu Leu Asn Trp Ser Thr Gln Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr
1040 1045 1050

Leu Glu Glu Lys Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn
1055 1060 1065

Val Leu Val Gln Thr Pro Ser Leu Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly
 1070 1075 1080

Leu Ala Lys Leu Leu Ser Ser Asp Ser Asn Glu Tyr Lys Ala Ala
 1085 1090 1095

Gly Gly Lys Met Pro Ile Lys Trp Leu Ala Leu Glu Cys Ile Arg
 1100 1105 1110

Asn Arg Val Phe Thr Ser Lys Ser Asp Val Trp Ala Phe Gly Val
 1115 1120 1125

Thr Ile Trp Glu Leu Leu Thr Phe Gly Gln Arg Pro His Glu Asn
 1130 1135 1140

Ile Pro Ala Lys Asp Ile Pro Asp Leu Ile Glu Val Gly Leu Lys
 1145 1150 1155

Leu Glu Gln Pro Glu Ile Cys Ser Leu Asp Ile Tyr Cys Thr Leu
 1160 1165 1170

Leu Ser Cys Trp His Leu Asp Ala Ala Met Arg Pro Thr Phe Lys
 1175 1180 1185

Gln Leu Thr Thr Val Phe Ala Glu Phe Ala Arg Asp Pro Gly Arg
 1190 1195 1200

Tyr Leu Ala Ile Pro Gly
 1205

<210> 26

<211> 3576

<212> DNA

<213> 斑马鱼(Danio rerio)

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(3573)

<223>

<400> 26

atg gca gga cca act gaa atc gga ttg ttt ttt acc tta ttg ctc tcc 48
 Met Ala Gly Pro Thr Glu Ile Gly Leu Phe Phe Thr Leu Leu Ser
 92

1	5	10	15	
ggg agc ttc tgc gcg acg ccg gaa aag aaa gtg tgt cag gga gca aac				96
Gly Ser Phe Cys Ala Thr Pro Glu Lys Lys Val Cys Gln Gly Ala Asn				
20	25	30		
aac aaa ctg act ctt ctg gga acg gtg gaa gac cat tat cag gtt ctg				144
Asn Lys Leu Thr Leu Leu Gly Thr Val Glu Asp His Tyr Gln Val Leu				
35	40	45		
ctc aga atg tac aga aac tgc act gtg gtt ctg gag aac ctg gaa att				192
Leu Arg Met Tyr Arg Asn Cys Thr Val Val Leu Glu Asn Leu Glu Ile				
50	55	60		
aca cat ata aca gag aaa tat gac ctg tcc ttc ctc aag agc atc cag				240
Thr His Ile Thr Glu Lys Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys Ser Ile Gln				
65	70	75	80	
gaa gtt ggt ggc tat gtt ctt atc gcg gtc aat acg gtt tcc aaa atc				288
Glu Val Gly Gly Tyr Val Leu Ile Ala Val Asn Thr Val Ser Lys Ile				
85	90	95		
cct ctg gag aac ctg cgc atc att cgc gga cac tca ctt tat gaa gac				336
Pro Leu Glu Asn Leu Arg Ile Ile Arg Gly His Ser Leu Tyr Glu Asp				
100	105	110		
aaa ttt gcc ttg gcc gtc ctg gtg aac ttc aac aac agc atc gaa caa				384
Lys Phe Ala Leu Ala Val Leu Val Asn Phe Asn Asn Ser Ile Glu Gln				
115	120	125		
ggc gta aaa gag ttg ccg ctg act agt tta act gaa ata ctt aag ggt				432
Gly Val Lys Glu Leu Pro Leu Thr Ser Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly				
130	135	140		
gga gtc aag ttt tgc agg aac gat tat tta tgt aat gtg ggg acc atc				480
Gly Val Lys Phe Cys Arg Asn Asp Tyr Leu Cys Asn Val Gly Thr Ile				
145	150	155	160	
gag tgg gcc gac atc ctg aac atg aag agc ctg cct aca atc gtg agc				528
Glu Trp Ala Asp Ile Leu Asn Met Lys Ser Leu Pro Thr Ile Val Ser				
165	170	175		
cat aat ata agc tat gga aaa aac tgt gga aag tgc gat cca agc tgt				576
His Asn Ile Ser Tyr Gly Lys Asn Cys Gly Lys Cys Asp Pro Ser Cys				
180	185	190		
ttc aat ggc tcc tgc tgg ggc acc gga ccc gac aag tgc cag aga atg				624
Phe Asn Gly Ser Cys Trp Gly Thr Gly Pro Asp Lys Cys Gln Arg Met				
195	200	205		
acg aaa gtg atc tgt gcg gag cag tgt tca ggg agg tgt aaa gga ccc				672
Thr Lys Val Ile Cys Ala Glu Gln Cys Ser Gly Arg Cys Lys Gly Pro				
210	215	220		
aga ccc att gac tgc tgt aat gaa cac tgt gct gct gga tgc act gga				720
Arg Pro Ile Asp Cys Cys Asn Glu His Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly				
225	230	235	240	
ccc aga cct aca gac tgt ctg gcc tgt aag gac ttc cag gat gaa ggg				768
Pro Arg Pro Thr Asp Cys Leu Ala Cys Lys Asp Phe Gln Asp Glu Gly				
245	250	255		
aca tgt aag gac gca tgt ccg cgg ctc atg ctc tac gac cca aac aca				816

Thr Cys Lys Asp Ala Cys Pro Arg Leu Met Leu Tyr Asp Pro Asn Thr
 260 265 270

cac cag ctc gcg cca aac cca tat ggg aag tac agc ttt ggg gca acg 864
 His Gln Leu Ala Pro Asn Pro Tyr Gly Lys Tyr Ser Phe Gly Ala Thr
 275 280 285

tgc atc aag aca tgc cca cac aac tat gtg gtg acg gat cac ggg gcc 912
 Cys Ile Lys Thr Cys Pro His Asn Tyr Val Val Thr Asp His Gly Ala
 290 295 300

tgt gtg aga aca tgc agc cct ggc acc tat gaa gtg gat gag ggt gga 960
 Cys Val Arg Thr Cys Ser Pro Gly Thr Tyr Glu Val Asp Glu Gly Gly
 305 310 315 320

gtt cgc aaa tgt aag agg tgt gaa ggc ctg tgt cca aaa gtg tgc aat 1008
 Val Arg Lys Cys Lys Arg Cys Glu Gly Leu Cys Pro Lys Val Cys Asn
 325 330 335

ggg ttg gga atg ggg cct tta gcc aat gtc ctg tca atc aat gcc acc 1056
 Gly Leu Gly Met Gly Pro Leu Ala Asn Val Leu Ser Ile Asn Ala Thr
 340 345 350

aac atc gac tcc ttt gag aac tgc act aaa atc agc ggc aat gtt gcc 1104
 Asn Ile Asp Ser Phe Glu Asn Cys Thr Lys Ile Ser Gly Asn Val Ala
 355 360 365

atc ctc agc acc aca ttc aga ggt gac cca cat act aac act tca gga 1152
 Ile Leu Ser Thr Thr Phe Arg Gly Asp Pro His Thr Asn Thr Ser Gly
 370 375 380

ctg gat cca gca aag ctc agt gta ttg agt act gtc aaa gaa atc act 1200
 Leu Asp Pro Ala Lys Leu Ser Val Leu Ser Thr Val Lys Glu Ile Thr
 385 390 395 400

ggt tac ctg atg att cag ctg tgg ccg gag agc atg cag tcc ctt agt 1248
 Gly Tyr Leu Met Ile Gln Leu Trp Pro Glu Ser Met Gln Ser Leu Ser
 405 410 415

gcc ttc gaa aac ctt gag gtc atc cga gga cgg aca aaa aca caa gga 1296
 Ala Phe Glu Asn Leu Glu Val Ile Arg Gly Arg Thr Lys Thr Gln Gly
 420 425 430

acg tac agc ttt gct gtc acc aag acg gcc atc act cat tta ggc atg 1344
 Thr Tyr Ser Phe Ala Val Thr Lys Thr Ala Ile Thr His Leu Gly Met
 435 440 445

cgt tct ctg agg gag atc agt gac ggg gac gtg tcc atc gtt aag aat 1392
 Arg Ser Leu Arg Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ser Ile Val Lys Asn
 450 455 460

aag aat ctc tgc tac agc agc cct gaa cac tgg aaa cgc ctc ttc aag 1440
 Lys Asn Leu Cys Tyr Ser Ser Pro Glu His Trp Lys Arg Leu Phe Lys
 465 470 475 480

tcc aaa caa cag tgc gtc aaa atg att gaa aat atg gat gct gcc acc 1488
 Ser Lys Gln Gln Ser Val Lys Met Ile Glu Asn Met Asp Ala Ala Thr
 485 490 495

tgc gcc aat cag aac agc aca tgt aat gag atg tgc acg gct gac ggc 1536
 Cys Ala Asn Gln Asn Ser Thr Cys Asn Glu Met Cys Thr Ala Asp Gly
 500 505 510

tgc tgg ggt ccc ggc ccc acc atg tgc ttc ggc tgt gag cat tac agc 1584
 Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Met Cys Phe Gly Cys Glu His Tyr Ser
 515 520 525

cgc gga aaa cac tgc gtg gct tcc tgc aac ctg ctg aat ggt gag ccg 1632
 Arg Gly Lys His Cys Val Ala Ser Cys Asn Leu Leu Asn Gly Glu Pro
 530 535 540

cgt gaa tat gag gtc aat aaa aca tgc atg gaa tgc gat cct gaa tgt 1680
 Arg Glu Tyr Glu Val Asn Lys Thr Cys Met Glu Cys Asp Pro Glu Cys
 545 550 555 560

ctg ctc atg aat gaa acc cag acc tgc aac ggc cct gga ccc gac aaa 1728
 Leu Leu Met Asn Glu Thr Gln Thr Cys Asn Gly Pro Gly Pro Asp Lys
 565 570 575

tgt aca gtg tgt gca aac tat aaa gac gga ccg cac tgt gtg cat cgc 1776
 Cys Thr Val Cys Ala Asn Tyr Lys Asp Gly Pro His Cys Val His Arg
 580 585 590

tgc ccg caa ggt gta cca gga gag aaa gac aca ctc atc tgg aaa tac 1824
 Cys Pro Gln Gly Val Pro Gly Glu Lys Asp Thr Leu Ile Trp Lys Tyr
 595 600 605

gct gac gtg aca cac gtt tgc cag ccc tgt cat gaa aac tgc acc cag 1872
 Ala Asp Val Thr His Val Cys Gln Pro Cys His Glu Asn Cys Thr Gln
 610 615 620

gga tgt acg ggg cct gat cta aag gac tgc aaa gat ttc aaa agc tct 1920
 Gly Cys Thr Gly Pro Asp Leu Lys Asp Cys Lys Asp Phe Lys Ser Ser
 625 630 635 640

ggt ttg ccg atg atc gct gct ggc gtt gtc gga ggt cta ctg gcg ttt 1968
 Gly Leu Pro Met Ile Ala Ala Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Ala Phe
 645 650 655

gtt att ctg gct ctt gga gtg gcc gtt ctc ctg cgc aga cgc cac atc 2016
 Val Ile Leu Ala Leu Gly Val Ala Val Leu Arg Arg Arg His Ile
 660 665 670

cgg agg aag agg act ctg aga cga ctc ctg caa gag aga gag ctt gtg 2064
 Arg Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu Val
 675 680 685

gag cct ctg acc ccc agc ggc gaa gcc ccc aat cag gcc tta ctg cgc 2112
 Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu Arg
 690 695 700

atc ctc aaa gag acg gag ttc aag aag atc aaa gtg ctg ggc tcc ggg 2160
 Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser Gly
 705 710 715 720

gct ttc ggc act gtg cac aag ggc ctt tgg gtt cca gaa gga gag aat 2208
 Ala Phe Gly Thr Val His Lys Gly Leu Trp Val Pro Glu Gly Glu Asn
 725 730 735

gtg aag atc cct gtc gcc atc aag gtc tta aga gaa gcc acg tct ccc 2256
 Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Val Leu Arg Glu Ala Thr Ser Pro
 740 745 750

aaa gct aac aag gag ata atg gat gag gcg tac gtc atg gcc agt gtt 2304
 Lys Ala Asn Lys Glu Ile Met Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser Val
 755 760 765

gag cat ccc cat gtg tgt cgt ctg ctg ggc atc tgc ttg acc tcc aca 2352
 Glu His Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr
 770 775 780

gtg cag ctc atc act cag ctg atg ccc tac ggc tgc ttg ctg gac tat 2400
 Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp Tyr
 785 790 795 800

gtc aga gaa aac aag gac cgc atc ggc tcc cag cac ctg ctc aac tgg 2448
 Val Arg Glu Asn Lys Asp Arg Ile Gly Ser Gln His Leu Leu Asn Trp
 805 810 815

tgc gtg cag atc gct aaa ggt atg aat tat cta gaa gag cgc cat ctt 2496
 Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Glu Arg His Leu
 820 825 830

gtg cac cga gac ctg gca gca cgt aat gtg ttg gta aag acg cct cag 2544
 Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro Gln
 835 840 845

cat gtc aag att acc gat ttc ggc ctc gcc aag ctg tta aac gcg gac 2592
 His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Asn Ala Asp
 850 855 860

gag aag gag tat cac gca gat gga gga aag gtt cca att aaa tgg atg 2640
 Glu Lys Glu Tyr His Ala Asp Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met
 865 870 875 880

gcg ctg gag tcc atc cag cac agg act tac acc cac cag agt gac gtc 2688
 Ala Leu Glu Ser Ile Gln His Arg Thr Tyr Thr His Gln Ser Asp Val
 885 890 895

tgg agc tac ggt gtg acc gtc tgg gag ttg atg acg ttt ggg acg aaa 2736
 Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Thr Lys
 900 905 910

cct tat gat ggg att cct gcc agt gaa atc gcc gga gtt ctg gaa aaa 2784
 Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ala Gly Val Leu Glu Lys
 915 920 925

gga gaa aga ctt cct caa ccc ccc atc tgc acc att gat gtg tac atg 2832
 Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met
 930 935 940

atc atg gtc aaa tgt tgg atg att gat gct gag agc aga ccc cgc ttc 2880
 Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Glu Ser Arg Pro Arg Phe
 945 950 955 960

agg gag ctc atc gca gag ttc act aaa atg gct cgt gac ccg tcc cgc 2928
 Arg Glu Leu Ile Ala Glu Phe Thr Lys Met Ala Arg Asp Pro Ser Arg
 965 970 975

tat ctg gtc att cag ggg gac gac cgc atg cat tta ccc agt cct tct 2976
 Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Asp Arg Met His Leu Pro Ser Pro Ser
 980 985 990

gac tcc aag ttc tac cgc agc ctg atg agc gga gag ctg gac gag gcc 3024
 Asp Ser Lys Phe Tyr Arg Ser Leu Met Ser Gly Glu Leu Asp Glu Ala
 995 1000 1005

gtg gac gca gac gag tat tta gtg ccc aat cac agc ttc ttc agc 3069
 Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Val Pro Asn His Ser Phe Phe Ser
 96

1010	1015	1020	
agc ccg	agc acg tcc cgc aca	caa ctg ctg cac tct	gtg agc ctg 3114
Ser Pro	Ser Thr Ser Arg Thr	Gln Leu Leu His Ser	Val Ser Leu
1025	1030	1035	
aac agc	agc ttt gga aac tgt	aat agt aga aac ggg	aat ggt tat 3159
Asn Ser	Ser Phe Gly Asn Cys	Asn Ser Arg Asn Gly	Asn Gly Tyr
1040	1045	1050	
cca gtg	agg gag aac agc atg	gtc ctg cgc tac atc	cca gac ccc 3204
Pro Val	Arg Glu Asn Ser Met	Val Leu Arg Tyr Ile	Pro Asp Pro
1055	1060	1065	
aca gag	cgc ttt cag gag gga	gac ttt cag cct gcg	ccg ggt tat 3249
Thr Glu	Arg Phe Gln Glu Gly	Asp Phe Gln Pro Ala	Pro Gly Tyr
1070	1075	1080	
aac gaa	tat atg aac cag aat	gag tcc agc atg atc	aac cca gtg 3294
Asn Glu	Tyr Met Asn Gln Asn	Glu Ser Ser Met Ile	Asn Pro Val
1085	1090	1095	
tac cag	cag ccc cac gga ccc	ccg cgg acc ctc ctc	cac tcc tcc 3339
Tyr Gln	Gln Pro His Gly Pro	Pro Arg Thr Leu Leu	His Ser Ser
1100	1105	1110	
cca gcg	ctg gac gag acg gaa	gag gag tat ctg aac	tgc ttc aag 3384
Pro Ala	Leu Asp Glu Thr Glu	Glu Glu Tyr Leu Asn	Cys Phe Lys
1115	1120	1125	
agc ccg	gct ccg gct tca gtg	gtg gag tat ctg aac	acg tcc cac 3429
Ser Pro	Ala Pro Ala Ser Val	Val Glu Tyr Leu Asn	Thr Ser His
1130	1135	1140	
aca cag	ctg ctc tcc aca aag	ccc ttc ttc agc atg	gac aac ccc 3474
Thr Gln	Leu Leu Ser Thr Lys	Pro Phe Phe Ser Met	Asp Asn Pro
1145	1150	1155	
gac tac	cag cag gac ttc tgc	ccg ctg gag ctc aaa	aca cac acc 3519
Asp Tyr	Gln Gln Asp Phe Cys	Pro Leu Glu Leu Lys	Thr His Thr
1160	1165	1170	
aac ggg	cac ctg ccg gcc gcg	cag aac cag gag tac	atg ggc ctg 3564
Asn Gly	His Leu Pro Ala Ala	Gln Asn Gln Glu Tyr	Met Gly Leu
1175	1180	1185	
gag gtg	cac tag		3576
Glu Val	His		
1190			

<210> 27

<211> 1191

<212> PRT

<213> 斑马鱼(Danio rerio)

<400> 27

Met Ala Gly Pro Thr Glu Ile Gly Leu Phe Phe Thr Leu Leu Leu Ser
1 5 10 15

Gly Ser Phe Cys Ala Thr Pro Glu Lys Lys Val Cys Gln Gly Ala Asn
20 25 30

Asn Lys Leu Thr Leu Leu Gly Thr Val Glu Asp His Tyr Gln Val Leu
35 40 45

Leu Arg Met Tyr Arg Asn Cys Thr Val Val Leu Glu Asn Leu Glu Ile
50 55 60

Thr His Ile Thr Glu Lys Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys Ser Ile Gln
65 70 75 80

Glu Val Gly Gly Tyr Val Leu Ile Ala Val Asn Thr Val Ser Lys Ile
85 90 95

Pro Leu Glu Asn Leu Arg Ile Ile Arg Gly His Ser Leu Tyr Glu Asp
100 105 110

Lys Phe Ala Leu Ala Val Leu Val Asn Phe Asn Asn Ser Ile Glu Gln
115 120 125

Gly Val Lys Glu Leu Pro Leu Thr Ser Leu Thr Glu Ile Leu Lys Gly
130 135 140

Gly Val Lys Phe Cys Arg Asn Asp Tyr Leu Cys Asn Val Gly Thr Ile
145 150 155 160

Glu Trp Ala Asp Ile Leu Asn Met Lys Ser Leu Pro Thr Ile Val Ser
165 170 175

His Asn Ile Ser Tyr Gly Lys Asn Cys Gly Lys Cys Asp Pro Ser Cys
180 185 190

Phe Asn Gly Ser Cys Trp Gly Thr Gly Pro Asp Lys Cys Gln Arg Met
195 200 205

Thr Lys Val Ile Cys Ala Glu Gln Cys Ser Gly Arg Cys Lys Gly Pro
210 215 220

Arg Pro Ile Asp Cys Cys Asn Glu His Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly
225 230 235 240

Pro Arg Pro Thr Asp Cys Leu Ala Cys Lys Asp Phe Gln Asp Glu Gly
245 250 255

Thr Cys Lys Asp Ala Cys Pro Arg Leu Met Leu Tyr Asp Pro Asn Thr
260 265 270

His Gln Leu Ala Pro Asn Pro Tyr Gly Lys Tyr Ser Phe Gly Ala Thr
275 280 285

Cys Ile Lys Thr Cys Pro His Asn Tyr Val Val Thr Asp His Gly Ala
290 295 300

Cys Val Arg Thr Cys Ser Pro Gly Thr Tyr Glu Val Asp Glu Gly Gly
305 310 315 320

Val Arg Lys Cys Lys Arg Cys Glu Gly Leu Cys Pro Lys Val Cys Asn
325 330 335

Gly Leu Gly Met Gly Pro Leu Ala Asn Val Leu Ser Ile Asn Ala Thr
340 345 350

Asn Ile Asp Ser Phe Glu Asn Cys Thr Lys Ile Ser Gly Asn Val Ala
355 360 365

Ile Leu Ser Thr Thr Phe Arg Gly Asp Pro His Thr Asn Thr Ser Gly
370 375 380

Leu Asp Pro Ala Lys Leu Ser Val Leu Ser Thr Val Lys Glu Ile Thr
385 390 395 400

Gly Tyr Leu Met Ile Gln Leu Trp Pro Glu Ser Met Gln Ser Leu Ser
405 410 415

Ala Phe Glu Asn Leu Glu Val Ile Arg Gly Arg Thr Lys Thr Gln Gly
420 425 430

Thr Tyr Ser Phe Ala Val Thr Lys Thr Ala Ile Thr His Leu Gly Met
435 440 445

Arg Ser Leu Arg Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ser Ile Val Lys Asn
450 455 460

Lys Asn Leu Cys Tyr Ser Ser Pro Glu His Trp Lys Arg Leu Phe Lys
465 470 475 480

Ser Lys Gln Gln Ser Val Lys Met Ile Glu Asn Met Asp Ala Ala Thr
485 490 495

Cys Ala Asn Gln Asn Ser Thr Cys Asn Glu Met Cys Thr Ala Asp Gly
500 505 510

Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Met Cys Phe Gly Cys Glu His Tyr Ser
515 520 525

Arg Gly Lys His Cys Val Ala Ser Cys Asn Leu Leu Asn Gly Glu Pro
530 535 540

Arg Glu Tyr Glu Val Asn Lys Thr Cys Met Glu Cys Asp Pro Glu Cys
545 550 555 560

Leu Leu Met Asn Glu Thr Gln Thr Cys Asn Gly Pro Gly Pro Asp Lys
565 570 575

Cys Thr Val Cys Ala Asn Tyr Lys Asp Gly Pro His Cys Val His Arg
580 585 590

Cys Pro Gln Gly Val Pro Gly Glu Lys Asp Thr Leu Ile Trp Lys Tyr
595 600 605

Ala Asp Val Thr His Val Cys Gln Pro Cys His Glu Asn Cys Thr Gln
610 615 620

Gly Cys Thr Gly Pro Asp Leu Lys Asp Cys Lys Asp Phe Lys Ser Ser
625 630 635 640

Gly Leu Pro Met Ile Ala Ala Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Ala Phe
645 650 655

Val Ile Leu Ala Leu Gly Val Ala Val Leu Leu Arg Arg Arg His Ile
660 665 670

Arg Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu Val
675 680 685

Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu Arg
690 695 700

Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser Gly
705 710 715 720

Ala Phe Gly Thr Val His Lys Gly Leu Trp Val Pro Glu Gly Glu Asn
725 730 735

Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Val Leu Arg Glu Ala Thr Ser Pro
740 745 750

Lys Ala Asn Lys Glu Ile Met Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser Val
100

755

760

765

Glu His Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr
770 775 780

Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Tyr Gly Cys Leu Leu Asp Tyr
785 790 795 800

Val Arg Glu Asn Lys Asp Arg Ile Gly Ser Gln His Leu Leu Asn Trp
805 810 815

Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Glu Arg His Leu
820 825 830

Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro Gln
835 840 845

His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Asn Ala Asp
850 855 860

Glu Lys Glu Tyr His Ala Asp Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met
865 870 875 880

Ala Leu Glu Ser Ile Gln His Arg Thr Tyr Thr His Gln Ser Asp Val
885 890 895

Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Thr Lys
900 905 910

Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ala Gly Val Leu Glu Lys
915 920 925

Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met
930 935 940

Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Glu Ser Arg Pro Arg Phe
945 950 955 960

Arg Glu Leu Ile Ala Glu Phe Thr Lys Met Ala Arg Asp Pro Ser Arg
965 970 975

Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Asp Arg Met His Leu Pro Ser Pro Ser
980 985 990

Asp Ser Lys Phe Tyr Arg Ser Leu Met Ser Gly Glu Leu Asp Glu Ala
995 1000 1005

Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Val Pro Asn His Ser Phe Phe Ser
1010 1015 1020

Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Gln Leu Leu His Ser Val Ser Leu
1025 1030 1035

Asn Ser Ser Phe Gly Asn Cys Asn Ser Arg Asn Gly Asn Gly Tyr
1040 1045 1050

Pro Val Arg Glu Asn Ser Met Val Leu Arg Tyr Ile Pro Asp Pro
1055 1060 1065

Thr Glu Arg Phe Gln Glu Gly Asp Phe Gln Pro Ala Pro Gly Tyr
1070 1075 1080

Asn Glu Tyr Met Asn Gln Asn Glu Ser Ser Met Ile Asn Pro Val
1085 1090 1095

Tyr Gln Gln Pro His Gly Pro Pro Arg Thr Leu Leu His Ser Ser
1100 1105 1110

Pro Ala Leu Asp Glu Thr Glu Glu Glu Tyr Leu Asn Cys Phe Lys
1115 1120 1125

Ser Pro Ala Pro Ala Ser Val Val Glu Tyr Leu Asn Thr Ser His
1130 1135 1140

Thr Gln Leu Leu Ser Thr Lys Pro Phe Phe Ser Met Asp Asn Pro
1145 1150 1155

Asp Tyr Gln Gln Asp Phe Cys Pro Leu Glu Leu Lys Thr His Thr
1160 1165 1170

Asn Gly His Leu Pro Ala Ala Gln Asn Gln Glu Tyr Met Gly Leu
1175 1180 1185

Glu Val His
1190

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN03/01127

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC⁷ A61K39/00; A61K39/12; C12N15/00; C12N15/13, A61P35/00;
According to International Patent Classification(IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched(classification system followed by classification symbols)

IPC⁷ A61K39/00; A61K39/12; C12N15/00; C12N15/13, A61P35/00;

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the field searched

Electronic data base consulted during the international search(name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, EPOQUE(WPI), NCBI

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant claim No.
A	WO, A2, 02092771, ((LUDW-N) LUDWIG INST CANCER RES), 21, NOVEMBER, 2002, see the abstract.	1-30
A	WO, A2, 0160317, ((REGC) UNIV CALIFORNIA, et al), 23, AUGUST, 2001, see the abstract .	1-30
A	WO, A2, 0109303, ((VICA-N) VICAL INC), 08, FEBRUARY, 2001, see the abstract.	1-30
A	WO, A2, 0129242, ((MONS) MONSANTO CO),, 26, APRIL, 2001, see the abstract.	1-30

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A"document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E"earlier document but published on or after the international filing date

"L"document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason(as specified)

"O"document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P"document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 MAY 2004(24.05.2004)

Date of mailing of the international search report

10 · JUN 2004 (10 · 06 · 2004)

Name and mailing address of the ISA/

The Chinese Patent Office
6, Xitucheng Road, Haidian District,
Beijing, 100088, China

Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

WEI chunbao

Telephone No. 86-10-62085065

Form PCT/ISA/210(second sheet)(July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internat'l application No.
PCT/CN03/01127

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family members	Publication date
WO, A2, 02092771	21-11-2002	NONE	
WO, A2, 0160317	23-08-2001	US-A1-2002058041 AU-A-200136967 EP-A2-1255554	16-05-2002 27-08-2001 13-11-2002
WO, A2, 0109303	08-02-2001	NONE	
WO, A2, 0129242	26-04-2001	AU-A-200115736 EP-A2-1224309	30-04-2001 24-07-2002

Form PCT/ISA/210(patent family annex)(July 1992)

A. 主题的分类

IPC⁷ A61K39/00; A61K39/12; C12N15/00; C12N15/13, A61P35/00;
按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

IPC⁷ A61K39/00; A61K39/12; C12N15/00; C12N15/13, A61P35/00;

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

EPOQUE(WPI), CNPAT, NCBI

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 包括相关段落的说明	相关的权利要求编号
A	WO, A2, 02092771, ((LUDW-N) LUDWIG INST CANCER RES), 21, 11 月, 2002, 见摘要.	1-30
A	WO, A2, 0160317, ((REGC) UNIV CALIFORNIA 等), 23, 8 月, 2001, 见摘要.	1-30
A	WO, A2, 0109303, ((VICA-N) VICAL INC), 08, 2 月, 2001, 见摘要.	1-30
A	WO, A2, 0129242, ((MONS) MONSANTO CO), 26, 4 月, 2001, 见摘要.	1-30

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☐ 见同族专利附件。

* 引用文件的专用类型:

“A” 明确表示了一般现有技术、不认为是特别相关的文件
“E” 在先文件, 但是在国际申请日的同一日或之后公布的
“L” 对优先权要求可能产生怀疑或者用来确定另一篇引用文件的公布日期或其它特殊理由而引用的文件(如详细说明)
“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他手段的文件
“P” 在国际申请日之前但迟于所要求的优先权日公布的文件

“T” 在国际申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理
“X” 特别相关的文件; 当该文件被单独使用时, 要求保护的发明不能认为是新颖的或不能认为具有创造性
“Y” 特别相关的文件; 当该文件与其他一篇或多篇这类文件结合在一起, 这种结合对本领域技术人员是显而易见的, 要求保护的发明不能认为具有创造性
“&” 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

24 5 月 2004(24.05.2004)

国际检索报告邮寄日期

10 · 6 月 2004 (10 · 06 · 2004)

国际检索单位名称和邮寄地址

中国专利局
中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)
传真号: 86-10-62019451

授权官员

魏春
电话号码: 86-10-62085065

国际检索报告
同族专利成员的情报

国际申请号

PCT/CN03/01127

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利成员	公布日期
WO, A2, 02092771	21-11-2002	无	
WO, A2, 0160317	23-08-2001	US-A1-2002058041 AU-A-200136967 EP-A2-1255554	16-05-2002 27-08-2001 13-11-2002
WO, A2, 0109303	08-02-2001	无	
WO, A2, 0129242	26-04-2001	AU-A-200115736 EP-A2-1224309	30-04-2001 24-07-2002

PCT/ISA/210 表(同族专利附件)(1992 年 7 月)